Année scolaire
1963

N° 4

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE
(Diplôme d'État)

PAR

Madame Madeleine CROIZET, *née* **ESTIBOTTE**
PHARMACIEN
LICENCIÉE ÈS SCIENCES

née à Bayonne (Basses-Pyrénées), le 18 juin 1931

1° — Thèse : HYPOTHALAMUS ET THYROÏDE.

2° — Question proposée par la Faculté : SCINTILLATEURS LIQUIDES ET LEUR INTÉRÊT EN BIOLOGIE.

Présentée et soutenue publiquement le mercredi 3 juillet 1963
devant la Commission d'examen :

MM. BLANQUET, Professeur ..... *Président*
MASQUELIER, Professeur ..... } *Juges*
MEYNIEL, Professeur ..... }

BORDEAUX
1963

Année scolaire
1963

N° 4

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE
(Diplôme d'État)

PAR

Madame Madeleine CROIZET, *née* **ESTIBOTTE**
PHARMACIEN
LICENCIÉE ÈS SCIENCES
née à Bayonne (Basses-Pyrénées), le 18 juin 1931

1° — Thèse : HYPOTHALAMUS ET THYROÏDE.

2° — Question proposée par la Faculté : SCINTILLATEURS LIQUIDES ET LEUR INTÉRÊT EN BIOLOGIE.

Présentée et soutenue publiquement le mercredi 3 juillet 1963
devant la Commission d'examen :

MM. BLANQUET, Professeur ..... *Président*
MASQUELIER, Professeur ..... } *Juges*
MEYNIEL, Professeur ..... }

BORDEAUX
1963

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYENS HONORAIRES : MM. DUPÉRIÉ, G. PORTMANN, R. SIGALAS.
DOYEN : M. F. TAYEAU. — ASSESSEURS : MM. P. LAUMONIER, G. VITTE.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. A. MANDOUL, DUVERGEY, LEURET, CHARRIER, DUBREUIL, PERRENS, CREYX, MAURIAC, DARGET, JOULIA, R. SIGALAS.

PROFESSEURS TITULAIRES

MM.	
G. PORTMANN	Clinique d'oto-rhino-laryngologie
P. FOURMENT.....	Pharmacologie
E. AUBERTIN	Clinique médicale et des maladies infectieuses
X. J. DUBECQ	Clinique odonto-stomatologique
G. VITTE	Pharmacie chimique et pharmacodynamie
R. FABRE	Physiologie
P. DELMAS-MARSALET ..	Clinique des maladies nerveuses et mentales
M. RIVIERE	Clinique d'accouchements
R. DE GRAILLY ...	Clinique médicale
P. DERVILLEE	Médecine légale et médecine du travail
A. FONTAN	Clinique médicale des maladies des enfants
R. MANDOUL.....	Zoologie et parasitologie
G. PIFFAULT.....	Physique médicale et pharmaceutique
R. CASTAGNOU ...	Toxicologie et hygiène appliquée
J. REBOUL	Électroradiologie et clinique d'électricité médicale
L. MASSÉ.....	Clinique chirurgicale
R. GIRARD.....	Botanique et cryptogamie
P. MESNARD	Chimie
R. DUFOUR	Anatomie
R. GRANDPIERRE .	Physiologie
P. BROUSTET	Clinique médicale
J. MAGENDIE	Clinique chirurgicale
F. TAYEAU.....	Biochimie médicale A
G. MAYER.....	Histologie et embryologie
P. BLANQUET.....	Physique nucléaire appliquée et radiobiologie
R. SARIC	Pathologie générale et expérimentale
L. POUYANNE.....	Clinique orthopédique et traumatologie
J.-J. DUBARRY....	Hydro-climatologie thérapeutique et Clinique des maladies de l'appareil digestif

MM.	
F.-J TRAISSAC....	Clinique thérapeutique
R. MAHON	Accouchement et obstétricie sociale
R. PAUTRIZEL.....	Immunologie et biologie parasitaire
M^lle G. ROUGIER..	Biologie appliquée à l'éducation physique et aux sports
G. MOUSTARDIER.	Bactériologie
A. LACHAPELE....	Carcinologie
P. CAZAUX.....	Hydrologie pharmaceutique
E. BESSIERE.....	Clinique ophtalmologique
H. LEGER.....	Anatomie pathologique
J. MASQUELIER ...	Matière médicale
G. MORETTI	Médecine et hygiène tropicales et Clinique des maladies exotiques
P. LAUMONIER....	Clinique chirurgicale pleuro-pulmonaire
J. LENG-LEVY	Pathologie médicale
R. LETAC.....	Pathologie et recherche chirurgicales
R. QUILICHINI....	Pharmacie galénique
E. NEUZIL	Biochimie médicale B
R. STOLL.....	Biologie
J. LANGE	Clinique urologique
P. FREOUR	Hygiène et Clinique de la tuberculose
F. RIGAUD.....	Anatomie
J. FAURE	Physio-pathologie et neurophysiologie
G. DUBOURG.....	Clinique chirurgicale des maladies cardiaques
J. VILLAR.....	Clinique gynécologique
P. LE COULANT...	Clinique des maladies cutanées et syphilitiques
M. BERGOUIGNAN.	Pathologie nerveuse et mentale
A. LAVIGNOLLE...	Sémiologie médicale

PROFESSEURS SANS CHAIRE :

MM. J.DESPONS (Oto-rhino-laryngologie), R. GOLSE (Pharmacie - 1re Section), J. DUHAMEL (Physique médicale), R. CANIVENC (Histologie), J. RIVIÈRE (Médecine générale), Cl. MARTIN-DUPONT (Médecine générale), J. DAVID-CHAUSSÉ (Médecine générale), J. MARQUEVIELLE (Chimie biologique).

MAITRES DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS :

MM.	
P. VERGER	Pédiatrie et puériculture
L. CHASTRUSSE...	Obstétrique
H. CABANIE.....	Anatomie
J. BIRABEN	Anatomie pathologique
H. DULONG DE ROSNAY.	Bactériologie
H. BRICAUD	Médecine générale
H LAUBIE.....	Pharmacie (2e Section)
P. du PASQUIER ..	Bactériologie
R. MARAUD.....	Histologie et embryologie
J. MEUNIER.....	Histologie
A. SERISE	Hygiène

MM.	
P. FERRET-BOUIN.	Physique médicale
J.-Cl. COLLETER ..	Chimie analytique
J. CANELLAS.....	Pharmacodynamie
R. JENSEN	Chimie biologique
J. BROUSSIN.....	Electroradiologie
A. CASTAING	Médecine générale et thérapeutique
R. TESSIER.....	Pneumo Phtisiologie
Mme J. SÉCHET....	Biochimie médicale
J. BAILENGER.....	Parasitologie
C. LAGARDE	Carcinologie
C. BERAUD	Thérapeutique

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

MM.	
R. TINGAUD	Chirurgie générale
J. DEPAULIS	
P. BENOIT.....	Odonto-stomatologie
P. DARMAILLACQ.	Chirurgie générale
L. CORCELLE	Ophtalmologie
M. PORTMANN....	Oto-rhino-laryngologie
M. BLANC.....	Neurologie et psychiatrie
P. BLANCHOT.....	Médecine générale
L. DOUTRE	Chirurgie générale
Cl. MASSE	Chirurgie générale
G. DELORME.....	Electroradiologie
F. BALLANGER ...	Urologie
J. STAEFFEN.....	Médecine générale

MM.	
P. BIRBIS	Chirurgie générale
J.-P. CALAMEL	
L. TEXIER	Dermato-syphiligraphie
H. POUYANNE	Neuro-chirurgie
P. LOISEAU	Neurologie et psychiatrie
J.-P. DUBECQ	Obstétrique
R. GENESTE	Orthopédie
J. VIDEAU	Anatomie
G. CABANIEU	Médecine générale
F. FONTAN	Chirurgie générale
L. COURAUD	
H. LAZARINI.....	Médecine légale et Médecine du travail
J. SOUMIREU-MOURAT..	Obstétrique
J. LASSERRE	Orthopédie

AGRÉGÉS LIBRES :

G. FAUGERE..... Obstétrique
M. L'EPEE..... Médecine légale

CHARGÉ DES FONCTIONS DE MAITRE DE CONFÉRENCES :

J. MOUNIER..... Physique pharmaceutique

CHARGÉS DE COURS COMPLÉMENTAIRES :

MM.	
J. DESPONS.....	Oto-rhino-laryngologie
G. FAUGERE.....	Accouchements
F. PERY	Puériculture
J. COUSTOU.....	Législation pharmaceutique
G. TEMPERE.....	Organographie et physiologie végétale
J. MARQUEVIELLE	Chimie biologique analytique
R. BABIN	Chimie générale et minéralogie
Mme LINQUETTE..	Physiologie
J. ROZIER.....	
R. BAUTE.....	Phytopharmacie
J.-M. AUBY.....	Médecine internationale
P. L'EPEE.....	Médecine légale
J. DAVID-CHAUSSE.....	Rhumatologie
J. de LOSTALOT ..	Pharmacologie
Cl. BÉRAUD.....	
J. DUHAMEL.....	Statistique appliquée à la biologie

MM.	
H. PARLANGE.....	Optique
Mlle LIERMAIN	Bromatologie
BANNEL.....	Psychiatrie médico-légale
G. CABANIEU	Allergologie
L. TEXIER	Vénéréologie
R TINGAUD.....	Pathologie chirurgicale
J. DEPAULIS.....	
MARZAT	Contrôle physico-chimique des médicaments
P. BERNADAC.....	Application médicale des radio-isotopes
J. BAILENGER.....	Zoologie
M. REGNER	Pharmacie industrielle
Mlle COUX.....	
M. LABADIE	Biochimie médicale
D.REISS	Chimie biologique
V.DARGELOS	Parasitologie et biologie appliquée
J.-Cl. ROQUES	Physique médicale

Le Conseiller administratif, Secrétaire de la Faculté : André GAYRAUD

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentée doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation, ni improbation

AVANT-PROPOS

Alors que nous venions d'obtenir notre diplôme de Pharmacien, Monsieur MOUNIER nous a permis de nous familiariser avec la vie d'un Laboratoire. Sous sa direction, nous nous sommes attaché à parfaire notre connaissance des techniques d'analyse. Nous lui en exprimons notre profonde gratitude. Sa bienveillante compréhension nous a ensuite permis de nous diriger vers de nouveaux sujets de recherches.

En effet, avant son départ pour BERKELEY, Monsieur le Professeur BLANQUET nous suggéra d'orienter notre travail sur l'étude du métabolisme thyroïdien. C'est alors que, sous la direction de Monsieur le Professeur MEYNIEL, nous nous sommes initiée à la chromatographie sur papier, sur colonne, à l'électrophorèse, à l'emploi de l'Iode 131 à dose traceur chez l'animal. Que Monsieur le Professeur MEYNIEL trouve ici, avec l'expression de notre profond attachement, l'assurance de notre bien vive reconnaissance pour toute la bienveillance qu'il nous a témoignée durant les années où nous avons eu le privilège de travailler avec lui.

Nous avons ensuite entrepris notre thèse de Doctorat en Pharmacie. En nous proposant cette étude, Monsieur le Professeur BLANQUET nous a confié un sujet qui lui est très cher. Nous lui demandons, en remerciement, d'accepter que ce modeste travail lui soit dédié. Qu'il nous soit également permis de lui témoigner tout particulièrement notre fidèle attachement pour la confiance qu'il nous a accordée en nous accueillant dans son Laboratoire.

La réalisation de cette thèse n'a cependant été rendue possible que grâce à la participation de différents Laboratoires de cette Faculté. Monsieur le Professeur MEUNIER n'a ménagé, pour nous, ni son temps, ni sa peine. Il a mis, à notre disposition, un travail considérable Nous sommes heureuse de lui en exprimer, aujourd'hui, notre bien vive

reconnaissance.

Par ailleurs, Monsieur le Professeur FAURE nous a fait bénéficier de son expérience dans le domaine de la stéréotaxie. Son aide nous a été très précieuse. Qu'il trouve ici, l'expression de nos sincères et respectueux remerciements.

Nous tenons, également, à associer dans un grand merci tous nos amis du Laboratoire de Physique Nucléaire et Radiobiologie, qui nous ont aidé à la réalisation de cette thèse ou qui ont montré un vif intérêt à son élaboration.

Nous désirons exprimer notre profonde reconnaissance à tous nos Maîtres de la FACULTE Mixte de MEDECINE et de PHARMACIE, et particulièrement à Monsieur le Professeur MASQUELIER pour l'honneur qu'il nous fait en siégeant dans notre Jury de thèse.

Enfin, avant d'aborder l'exposé de nos recherches, nous ne voulons pas oublier l'encouragement et l'aide constante que nos parents n'ont cessé de nous prodiguer et qui ont permis l'épanouissement de notre carrière. Qu'ils trouvent, ici, le témoignage de notre profonde affection.

INTRODUCTION

L'étude des relations hypothalamo-hypophysaires suscite actuellement un très grand intérêt.D'après COURRIER (70), "il est devenu classique de considérer l'hypothalamus comme une articulation neuro-endocrinienne de haute valeur".Mais s'il est aujourd'hui bien établi que l'hypothalamus contrôle de façon certaine les fonctions gonadotrope et corticotrope, on ne connaît toujours pas le mécanisme précis de son action sur la fonction thyroidienne.Certes,cela ne signifie pas que le contrôle exercé par l'hypothalamus sur la thyroïde n'est pas aussi important que celui exercé sur les autres glandes endocrines.Mais quelle est "l'articulation" avec les stimulines hypophysaires?D'importants arguments font délaisser la théorie nerveuse,et plaident en faveur d'une théorie humorale.En réalité il semble que c'est une théorie neuro-humorale qui est la plus valable.Le neuro-sécrétat hypothalamique peut se rendre directement à la post-hypophyse et également gagner la préhypophyse (SCHARRER (280)- GREEN et HARRIS (129) - BENOIT et ASSENMACHER (28)- On admet aujourd'hui que les hormones post-hypophysaires sont en réalité élaborées par l'hypothalamus,et certains auteurs,tels DUBREUIL et MARTINI (97) affirment que ces mêmes hormones sont aussi des excitants de la préhypophyse.

A la suite des travaux de SHIBUSHAWA (293-294-295-296-297-298-299) concernant l'éventuelle identification d'une substance à activité TRF (thyrotropin releasing factor), toute une série de chercheurs s'est lancée dans cette nouvelle voie.Ce problème sera vraisemblablement résolu assez rapidement et on connaîtra ainsi la substance,qui,à l'étage supérieur ajuste la fonction thyroidienne à un niveau optimum.

Dans ce travail,nous nous sommes proposés après un exposé bibliographique détaillé,du point de vue physiologique et biochimique,de mettre en évidence de façon précise,par des expériences de stéréotaxie le rôle prépondérant que jouait l'hypothalamus.

Mais une telle technique,malgré toutes les précautions prises,prête toujours à discussion.

En conséquence,nous avons effectué toute une série d'expériences d'homogreffes,où l'hypophyse est implantée, après section de la tige,très loin de l'hypothalamus.

Enfin,dans le but de connaître quel était le mécanisme de cette action hypothalamique,nous avons cherché à obtenir le maximum de précisions sur cette "molécule clé" qui agissait sur la TSH elle-même.A cet effet,nous avons entrepris une étude détaillée de l'action de diverses hormones post-hypophysaires synthétiques.

Nos conclusions générales seront rapportées dans le dernier chapitre,où nous ferons en même temps le point des résultats acquis à ce jour.Ceci nous permettra de dégager une vue synthétique sur cet intéressant problème des relations hypothalamo-hypophyso-thyroidiennes.

CHAPITRE I

Si les expériences concernant la thyroïde ont été moins nombreuses que celles se rapportant aux fonctions gonadotrope et corticotrope ,il n'en reste pas moins vrai que les techniques mises en oeuvre ont été fort nombreuses : lésions et stimulation de l'hypothalamus,section de la tige pituitaire, greffe d'hypophyse,localisation des hormones radioactives, injection d'extraits hypothalamiques,effets de divers agents chimiques et hormonaux etc...

L'importante revue publiée par P.BLANQUET (32) en 1962 nous a permis de suivre facilement l'enchaînement existant entre les nombreuses expériences réalisées dans ce domaine.

On peut admettre à l'heure actuelle un contrôle hypothalamique réel de la glande thyroïde.Dans les quelques pages qui vont suivre,nous résumerons les principales données acquises sur cet important problème.

- 1 - LESIONS DE L'HYPOTHALAMUS -

Les expériences les plus anciennes sont d'une interprétation difficile.En effet,la localisation et l'etendue des lésions efficaces varient énormément d'un auteur à l'autre. De plus,toutes les réactions possibles d'un organisme à l'hormone thyréotrope ont été utilisées.Pour la mise en évidence d'un effet des lésions hypothalamiques,GRAFE et GRUNTHAL (1929) (128) et BLOCH (1943) (38) mesuraient le métabolisme basal. BLOCH avait pu montrer,ainsi,que des lésions bilatérales très étendues dans l'hypothalamus antérieur produisaient une chute nette du métabolisme de base chez le Chat.Les observations de CAHANE (1938) (61) chez le Lapin sont intéressantes;elles mettent l'accent sur l'existence possible de 2 centres antagonistes,l'un stimulant,l'autre inhibant la fonction thyroidienne,grâce à l'examen histologique des cellules folliculaires.

En 1951,GREER (130) fut un des premiers à apporter une preuve réelle de cette action hypothalamique en pratiquant des

lésions de l'hypothalamus antérieur chez le Rat traité préalablement au propylthiouracile (PTU).Les lésions localisées entre les noyaux ventro-médians et suprachiasmatiques, (les noyaux paraventriculaires étant détruits),suppriment la réaction normale au PTU : le goître,tout en maintenant, cependant,l'augmentation de la fixation thyroïdienne de I^{131}. Ces résultats ont amené GREER (1952) (131) à postuler l'existence de 2 hormones thyréotropes hypophysaires,appelées l'une "facteur de croissance",nécessitant un hypothalamus intact, l'autre "facteur de métabolisme",stimulant le métabolisme de l'iode et indépendant de l'hypothalamus.GREER ignore comment s'exerce le contrôle de l'hypothalamus sur le facteur de croissance : "il peut être soit neural,soit neurohumoral, ce dernier paraissant plus vraisemblable".Mais quelles conséquences directes attribuer à de telles lésions?Pour élucider ce point important,GREER (1955)(132) montra que des rats porteurs de lésions hypothalamiques,traités au PTU,répondent à un apport exogène de TSH,par une augmentation notable du poids de leur thyroide,et il conclut :"l'incapacité apparente pour l'hypophyse à répondre au PTU correspond à une impossibilité d'augmenter son taux de sécrétion en TSH".GREER et ERWIN (134) montrèrent également qu'il existait dans l'hypothalamus autant de zones spécifiques que de sécrétions hormonales hypophysaires,en supprimant l'une ou l'autre des actions sélectives exercées par l'amphénone (HERTZ)(165-166).

Employant des techniques similaires de destruction, BOGDANOVE et HALMI (40) en 1953 arrivèrent aux mêmes résultats: pas de réponse au PTU,stabilité du rapport T/S ;une étude histologique approfondie leur montra que les thyroides étaient normales,mais que dans l'hypophyse,les cellules basophiles ne se coloraient pas à la fuschine.BOGDANOVE (41) répéta la même série d'expériences sans soumettre les Rats au PTU :l'hypophyse était donc capable de maintenir un fonctionnement thyroidien normal en sécrétant suffisamment de TSH,seul était nécessaire, pour intensifier la sécrétion thyroidienne (322),le maintien intact des connections hypothalamo-hypophysaires.

Les hypophyses résiduelles de Rats porteurs de lésions et ayant subi un traitement goîtrogène présentaient une sécrétion de thyréotrophine sélectivement diminuée,et une sécrétion de gonadotrophine normale.La combinaison de ces deux effets faisait penser à l'existence de 2 mécanismes régulateurs hypothalamo-hypophysaires séparés,concernant les aspects individuels de l'activité du lobe antérieur.

GANONG et coll.(122) observèrent que des lésions antérieures de l'éminence médiane abaissent,chez le Chien,la fixation de I^{131} par la thyroide jusqu'à un taux voisin de celui présenté par les hypophysectomisés.Mais le fonctionnement et l'histologie de la thyroide n'étaient pas modifiées chez les Chiens présentant des lésions situées en d'autres régions de l'hypothalamus : "il n'y a pas de corrélation nette entre l'inertie thyroidienne et une diminution fonctionnelle des autres glandes endocrines.Au contraire,il existe une réponse endocrinienne typique pour chaque site hypothalamique;" Cette étude de GANONG et de ses collaborateurs a été la première à démontrer l'influence de l'hypothalamus sur la thyroide en l'absence de PTU.

REICHLIN (258)(259)(1957) pratiqua des thyroidectomies partielles;l'augmentation du pouvoir de concentration de l'iode par le résidu thyroidien était réduite par une lésion au niveau de l'hypothalamus antérieur,mais la réponse hypertrophique du fragment thyroidien subsistant demeurait en grande partie.

D'ANGELO et TRAUM (6) administrèrent une dose unique de PTU aussitôt après le 1°comptage pour éviter le retour de I^{131} dans la glande.Ils obtinrent les mêmes résultats que GREER (130) et BOGDANOVE (40).

En France,COURRIER,COLONGE,et MOREL (77)(1956) reprirent le problème abordé en 1944 par JOLIOT,HOREAU et SUE (175)(176). Ils essayèrent de déterminer si de la thyroxine injectée à des animaux porteurs de lésions posthypophysaires,serait encore capable d'entraîner le repos thyroidien.Deux injections quotidiennes de thyroxine pendant 15 jours abaissent fortement l'activité thyroidienne de Rats porteurs ou non de lésions

hypothalamiques.Cependant,le niveau atteint est beaucoup plus bas chez les animaux lésés.La thyroxine est donc encore capable de provoquer un repos thyroidien chez des sujets dont l'hypothalamus "postérieur" est atteint ainsi qu'en témoigne le diabète insipide qui apparait chez ces animaux.

FLORSHEIM (114) a montré que des lésions susceptibles d'inhiber la réponse de la thyroide aux goîtrogènes peuvent, dans certaines conditions,et contrairement aux travaux de GREER,diminuer le taux de sécrétion de l'hormone marquée. Mais la dichotomie observée par GREER,entre les deux réponses est vraisemblablement due à une plus grande sensibilité du rapport T/S comparativement au taux de TSH circulant. GREER (133) a d'ailleurs adopté cette manière de voir (1959).

D'autres auteurs ont confirmé ces résultats :KOVACS (190)(1960),AVERILL (13)(1961).Pour PURVES (256)(1960),les lésions des noyaux paraventriculaires produisent une augmentation de la sensibilité du mécanisme thyréotrope à l'action inhibitrice de la thyroxine.Dernièrement,REICHLIN (259) s'intéressa à localiser la "zone thyréotrope".En jouant sur la position de la lésion,il arriva à préciser le rôle de plusieurs aires.Il constata qu'il n'y avait pas de localisation spécifique pour la croissance et pour le diabète insipide.

Il ressort de ce bref aperçu des nombreux travaux concernant la "zone thyréotrope" que des lésions,à son niveau, inhibent l'action des substances goîtrogènes et que les modifications du métabolisme thyroidien sont vraisemblablement dues à une diminution du taux de TSH circulant.

Toutes ces méthodes nécessitent une intervention et toutes les conséquences que cette dernière comportent.Aussi a-t-on pu pratiquer des lésions hypothalamiques d'une façon toute différente .

On peut,en effet,focaliser un fin pinceau de particules de haute énergie,protons ou deutons,au niveau de l'hypothalamus antérieur du Rat.A l'aide du cyclotron de 184 inches de BERKELEY TOBIAS et BLANQUET (36-313-317) ont pu démontrer que l'on pouvait réaliser dans ces conditions une lésion sélective à

ce niveau,dans une zone bien déterminée,par exemple la zone thyréotrope encore appelée zone de GREER.Les lésions produites sont d'aussi petite surface que celles que l'on effectue par stéréotaxie.Les hydrolysats thyroidiens de différents lots d'animaux ont été comparés (témoins,animaux hypophysectomisés ou irradiés au niveau de l'hypophyse,animaux irradiés au niveau de l'hypothalamus antérieur).Chez l'animal hypophysectomisé ou dont l'hypophyse a été irradiée au moyen de particules de haute énergie,les concentrations intrathyroidiennes de thyroxine (T_4) et de ses précurseurs sont très petites. Au contraire,elles sont élevées chez l'animal normal.Enfin, les animaux dont l'hypothalamus a été lésé présentent une singularité intéressante : les quantités intrathyroidiennes de monoiodotyrosine (MIT) et de diiodotyrosine (DIT) sont certes un peu plus faibles que dans le lot d'animaux normaux, mais surtout le pourcentage de T_4 trouvé est intermédiaire entre celui des animaux hypophysectomisés et celui des normaux. Cette constatation montre que c'est vraisemblablement l'hypothalamus qui ajuste le niveau métabolique auquel fonctionne la thyroide,et qu'une lésion sélective de cette aire particulière,provoque un déficit,en hormones,sans cependant conduire l'animal au niveau rencontré chez l'hypophysectomisé.

- 2 - STIMULATION DE L'HYPOTHALAMUS -

De nombreuses expériences de stimulation ont été effectuées dans le laboratoire de HARRIS (53-54-57-129-157-158-159-160).Sa méthode de commande à distance de la stimulation décrite en 1955 (158),introduit "entre peau et crâne" de l'animal une petite self plate en cuivre émaillé.A l'une des extrémités de cette self,est soudée une électrode en platine, isolée sauf à son extrémité et solidaire d'un support en ébonite,qui peut être vissé dans l'os.L'autre extrémité est reliée à 4 tours de fil inoxydable qui joue le rôle d'électrode indifférente.Ainsi la seule partie en contact avec le tissu intracranien est le petit tube capillaire isolant en verre et l'extrémité nue inférieure constituée d'un mm de fil de platine.

La stimulation est effectuée en plaçant la tête de l'animal dans un champ électromagnétique variable,qui entrainera par induction l'apparition d'une impulsion de potentiel dans la self.Aucune de ces substances ne peut être cause d'irritation ou de réaction visible au microscope dans les tissus du cerveau.Cette méthode de commande à distance est très intéressante du fait que l'animal est libre mais présente un grave inconvénient : l'impulsion peut varier,dans de larges proportions, si la relation géométrique entre le primaire et le secondaire vient à être modifiée.

GREEN & HARRIS (non publié) étudièrent tout d'abord les variations du métabolisme thyroidien par la mesure de la consommation d'oxygène.Aucune différence notable ne fut trouvée,mais il semble bien que cette méthode d'estimation n'était pas assez sensible.COLFER(66) en 1949,dans une étude morphologique,avait trouvé des signes d'augmentation de l'activité thyroidienne chez le Lapin et le Rat après stimulation prolongée de l'hypothalamus.Ces résultats sont à opposer à ceux de GREER et RIGGLE (135) qui,en 1957,stimulèrent la zone de contrôle de la thyréotrophine sans obtenir de modification du poids de la thyroide.

HARRIS et ses collaborateurs choisirent ensuite de mesurer le taux de libération des hormones marquées par la thyroide.En effet,WOLFF (333),ALBERT (5) et PERRY (250) avaient déjà décrit séparément une méthode simple de détermination de l'activité thyroidienne par la mesure de l'iode organique marqué présent dans la glande du Rat.BROWN-GRANT (54) adapta cette méthode au Lapin.Les mesures sont faites d'abord 48 heures puis 72 heures après l'administration de ^{131}I,avant toute intervention sur l'hypothalamus.Au bout de 48 heures,en effet, la mesure de la radioactivité au niveau du cou de l'animal non anesthésié,placé dans un hamac spécial afin de le maintenir dans une position constante par rapport au compteur,est un bon reflet de la teneur en iode de la thyroide,les tissus voisins n'en contenant plus.La sécrétion hormonale s'effectue normalement en fonction du temps suivant une droite semi-logarithmique dont la pente est faible.Cette pente est forte-

ment augmentée par l'administration de TSH à l'animal. (HARRIS 1955)(158).Les stimulations de l'hypothalamus s'effectuent sur des Lapins,non anesthésiés,porteurs d'électrodes reliées à une bobine d'induction introduite sous la peau de l'animal.En plaçant le Lapin dans une cage située dans un champ électrique et en induisant dans la bobine un courant convenable on obtient une stimulation chronique généralement prolongée pendant 24 heures.Le résultat de cette stimulation est une décharge de TSH,mesurée par l'augmentation de vitesse de disparition de l'iode thyroidien.

L'effet est augmenté par surrénalectomie (HARRIS et WOOD) (1957)(162),(1958)(163).Dans tous les cas les électrodes doivent être localisées,pour être efficaces,dans la partie antérieure de l'éminence médiane,juste en dessous du 3ème ventricule (HARRIS)(1959)(160).En outre,l'effet des stimulations "aiguës" a été également observé en employant comme test du fonctionnement thyroidien la différence de radioactivité des sangs veineux et artériel de la glande (CAMPBELL)(1959)(62). Là encore,les résultats ont montré qu'une stimulation aiguë ou chronique de l'hypothalamus est rapidement suivie d'une décharge de TSH.

Il est intéressant de comparer les résultats obtenus pour les stimulations et pour les lésions.Ils concordent en général et permettent de conclure à l'existence d'une régulation hypothalamique de la fonction thyréotrope hypophysaire. La localisation des centres est cependant plus difficile à établir.Certains résultats (BOGDANOVE et HALMI)(40),GANONG (122):lésions,HARRIS (157) : stimulations,situent le centre actif dans la partie de l'éminence médiane située en avant du 3ème ventricule.

D'autres,GREER (130),PURVES (256) font intervenir les noyaux paraventriculaires dans cette régulation.

Mais jusqu'à présent,nous n'avons considéré que la stimulation de zones localisées de l'hypothalamus.Il doit être cependant noté que des stimuli naturels peuvent agir sur les glandes endocrines,très vraisemblablement par le trajet hypothalamo-hypophysaire.

Le rôle de la lumière,sur l'activité gonadotrophique de l'hypophyse antérieur,a été longuement étudié (BENOIT & ASSENMACHER 1955,(28),mais ses effets sur la fonction thyroidienne ont fait l'objet de moins d'investigations et les conclusions sont quelque peu contradictoires.CEHOVIC (1957)(64) entreprit une étude de ce type sur la Grenouille.En maintenant des Grenouilles à l'obscurité,il nota une nette diminution de la fixation thyroidienne et une augmentation du rapport H/P . Par contre PUNTRIANO et MEITES (255) observèrent chez la Souris une augmentation de la fonction thyroidienne lors d'un séjour à l'obscurité.WOITKIEWITCH (331) signala une activité métamorphogénétique plus grande des hypophyses de Grenouilles éclairées que pour celles des animaux gardés à l'obscurité. PSYCHOYOS (254) trouva qu'un éclairage court chez le Rat,augmentait faiblement l'activité thyroidienne et qu'un éclairage prolongé la diminuait.Comme on le voit ces recherches ont donné des résultats contradictoires,dus sans doute au fait des espèces utiliséss et de la durée des expériences.En conclusion, selon FLORENTIN et STUTINSKY (113),la lumière,par le relais hypothalamo-hypophysaire,aurait une très nette action sur la fonction thyroidienne.

- 3 - <u>SECTION DE LA TIGE PITUITAIRE</u> -

Pour objectiver le contrôle de l'hypothalamus sur les glandes endocrines,et en particulier,sur la thyroide,il était logique de suivre la voie par laquelle l'hypothalamus réglait la sécrétion de l'antéhypophyse.La section de la tige hypophysaire n'est pas une technique très moderne,puisque la première expérience de ce genre remonte à 1910.A cette époque, CUSHING (87) avait observé que la section de la tige conduisait, chez le Chien,à une atrophie génitale définitive.La découverte des veines portes hypophysaires par POPA (252) en 1930 et celle des étroits rapports existants entre le système porte hypophysaire et les fibres nerveuses du faisceau hypothalamo-hypophysaire au niveau de l'éminence médiane par GREEN et HARRIS (1947) (129) donnèrent naissance à la théorie neuro-humorale.

De nombreux chercheurs ont pratiqué des sections de la tige.UOTILA 1939-1940 (319-320-321) ne trouva aucune modification histologique de la glande,qui réagissait par atrophie, à la thyroxine,et par hypertrophie compensatrice à la thyroidectomie quasi-totale.WESTMAN (328) par contre,constata un hypofonctionnement de la thyroide de Rats et de Lapins à tige sectionnée.BROLIN (1945-1947)(50-51) constata également une diminution de l'activité thyroidienne,mais ne put mettre en évidence après thyroidectomie supplémentaire,d'hypertrophie,ni de vacuolisation des cellules basophiles de la pituitaire. BARRNETT & GREEP (1951)(20) rapportèrent que la section de la tige diminuait considérablement l'augmentation du poids de la thyroide chez les animaux traités à la thiourée.

Comme on le voit,cette opération de section de la tige a donné des résultats contradictoires.HARRIS (157) en 1950 trouva une explication à ces contradictions : le système porte-hypophysaire présente un courant sanguin allant vers le bas, c'est-à-dire de l'éminence médiane à l'adénohypophyse. Donc,l'influence hypothalamique pouvait s'exercer par la voie de ces vaisseaux et les résultats contradictoires des expériences de section de la tige pouvaient s'expliquer par une marche variable de la régénération de ces vaisseaux à travers la section.HARRIS suggéra,comme les vaisseaux portes-hypophysaires se régénéraient facilement et rapidement (24 à 48 heures) chez les mammifères,d'insérer des lamelles de plastique ou de cellophane entre les extrémités sectionnées de la tige.Les premières expériences datent de 1955.Une étude détaillée complète fut publiée en 1957 par BROWN-GRANT,HARRIS & REICHLIN (57).Les animaux étaient divisés en deux groupes, un lot avec une section simple de la tige,le second avec section et mise en place de plastique intermédiaire.Lors de l'étude du métabolisme thyroidien,ces auteurs purent mettre en évidence,dans le second lot,une diminution massive du stockage de ^{131}I,à 48 heures,le premier lot présentant un stockage normal.Cependant,le diagramme exprimant la perte en ^{131}I subie par la glande,en pourcentage et par jour,manifeste une forte diminution dans les deux séries.Cette dichotomie

est intéressante,car la section de la tige doit être complète, avec plaques,pour agir de façon effective sur le mécanisme de captation de l'iode.Cependant,même une simple section de la tige,permettant la régénération des vaisseaux portes, produit un effet notable sur la pente de la courbe,ce qui signifie qu'elle réduit,de façon appréciable,la quantité d'hormone sécrétée par la glande.Ainsi,le contrôle de l'hypothalamus semble s'exercer plus fort sur la sécrétion de TSH et,en conséquence,sur la concentration d'hormones sécrétées que sur le stockage de ^{131}I par la glande.

Par ailleurs,on sait que la décharge d'iode organique par la glande est stoppée chez le Rat normal à la suite d'injection de thyroxine.Il n'existe pratiquement pas de modification de ce phénomène chez le Rat dont la tige pituitaire a été sectionnée. (Von EULER & HOLMGREN 1956)(101)(102).

Il est vraisemblable,selon HARRIS,que certains stimulants agissent uniquement par voie nerveuse,et d'autres, par double voie (nerveuse et médiateur chimique),mais même dans ce second cas,le contrôle de l'hypothalamus reste présent.

Dans le cas précis de la thyroxine,l'effet est obtenu chez des rats normaux et des rats ayant subi une section de la tige,avec plaque.Mais il y a vraisemblablement,dans ce dernier cas,une diminution de la réserve de TSH dans la pituitaire,de même que de la TSH circulante.L'injection d'une même dose de T_4 (ainsi que l'ont montré COURRIER & Coll.1956)(79)(80) cause une inhibition plus grande chez l'animal à tige sectionnée que chez l'animal normal.

BLANQUET (non publié),expérimentant sur le Rat femelle obtint des résultats analogues à ceux de HARRIS (1957)(162). Deux lots d'animaux,l'un avec plaque,l'autre sans,présentèrent une diminution de la concentration intrathyroidienne en thyronines (déficit portant sur le contenu hormonal de la glande);le stockage de ^{131}I à 24 heures était réduit de façon appréciable seulement chez les animaux porteurs de plaque; l'iode organique était très bas dans les deux groupes;le poids des glandes endocrines fortement diminué dans le cas de section de la tige avec plaque,très peu modifié dans le cas de section

de la tige avec plaque,très peu modifié dans le cas de section sans plaque;enfin,on notait une sérieuse diminution dans le poids de l'hypophyse,probablement par suite de l'atrophie du lobe neural et de la diminution de volume de la partie antérieure (fait déjà noté par CAMPBELL & HARRIS 1957)(63).

Il semble bien ressortir de l'ensemble de ces travaux que la section de la tige entraine une diminution de la concentration hormonale intrathyroidienne,et une diminution de la sécrétion hormonale;que la section,avec mise en place de plaque,entraine une diminution de stockage;Donc,l'hypophyse séparée de ses connections hypothalamiques peut encore produire de la TSH,mais en quantité réduite.En conséquence, le stock de TSH pituitaire diminue,il en est de même de la TSH circulante,ce qui explique la diminution de l'hormone intrathyroidienne et circulante.

On arrive,ainsi,aux mêmes conclusions qu'avec les lésions de l'hypothalamus,mais cette méthode est moins sûre du fait qu'il existe un risque de régénération au niveau de la section.

- 4 - GREFFE DE L'HYPOPHYSE -

A l'heure actuelle,la technique des greffes est bien au point,et l'on peut par cette méthode,étudier de façon précise le contrôle de la fonction thyroidienne.

Les premiers essais de greffe datent de 1909 (CROWE, CUSHING & HOMANS)(84);la pituitaire a été depuis transplantée dans les endroits les plus variés : muscle,moelle osseuse, cortex cérébral,testicules,oeil,thyroide...(PHELPS 1939)(251), (HILL et GARDNER 1936)(169),(MAY 1935,1937)(222-223),(WESTMANN & JACOBSOHN 1940)(328),(CUTULY 1941)(88),(GREER 1953)(136),(Von EULER & HOLMGREN 1956)(101-102),(COURRIER 1957)(71),(72),(73), (74)...

Dès 1937,SCHWEIZER,CHARIPPER & HATERIUS (291) montraient que les greffes,dans la chambre antérieure de l'oeil du cobaye hypophysectomisé,maintenaient la thyroide en état d'équilibre.

Reprenant la même méthode,SCHWEIZER & LONG (290) en 1950, constatèrent que la fonction thyroidienne se maintenait à un certain niveau,mais que le poids de la thyroide était de l'ordre de grandeur de celui d'une glande de rat hypophysectomisé.

GREER,SCOW & GROBSTEIN (136) en 1953 pratiquèrent des greffes intraoculaires chez la souris hypophysectomisée. Ils obtinrent des résultats identiques.

L'administration de PTU ou de Thyroxine produit les mêmes effets que chez le témoin normal;alors que l'on obtient aucune réaction chez l'animal hypophysectomisé.Une étude approfondie du métabolisme thyroidien montra cependant que, chez ces animaux présumés normaux,il ne circulait,dans le plasma,que le 1/10° de l'hormone habituelle.

On aboutit donc à des résultats analogues à ceux obtenus chez les animaux porteurs de lésion hypothalamique ou de section de la tige pituitaire.

EULER & HOLMGREN (101-102),dans des conditions expérimentales identiques,mais en se basant sur l'étude de la "courbe de décharge" obtinrent des résultats similaires : la fixation de ^{131}I est inférieure à celle des rats normaux,mais il existe cependant une libération d'hormone,qui n'a pas lieu chez l'hypophysectomisé.Donc le fonctionnement thyroidien persiste mais il est à un niveau inférieur.Ce point fut confirmé par une détermination quantitative de l-thyroxine chez les animaux greffés (BROWN-GRANT & GIBSON)(55) qui met en évidence une sécrétion réduite chez la plupart d'entre eux.Enfin,dans une dernière série d'expériences,un arrêt rapide de la décharge de ^{131}I par la glande fut mis en évidence quand les animaux opérés subissent l'énucléation de l'oeil portant la greffe (BROWN-GRANT 1954)(56).

Les expériences relatées ci-dessus sont très probantes et permettent les conclusions suivantes : la greffe de la pituitaire antérieure peut se faire avec succès,loin de la pituitaire (GREER 1953)(136),(EULER & HOLMGREN 1956)(101-102). Cette greffe est viable,les animaux greffés étant capables de libérer de l'iode organique de leur thyroide,cette décharge s'arrêtant lorsque le greffon est extirpé.La T. exogène bloque

ce phénomène,alors que la TSH l'exagère.En conséquence,le mécanisme permettant la régularisation du taux de T_4 circulant fontionne,même après rupture des liaisons hypothalamiques. Mais ces greffes ne sont cependant pas capables de maintenir le taux de sécrétion de TSH au niveau normal.De plus,les animaux opérés ne réagissent plus au stress,au froid,ou aux anesthésiques.Le rôle de la pituitaire postérieure reste toujours obscur.La posthypophyse coupée de ses connections nerveuses,lors de la greffe,dégénère.

Plus récemment,COURRIER (1956-1957)(70,71,72,74)pratiqua des greffes de pituitaire chez le rat hypophysectomisé au niveau du tissu reliant les deux lobes thyroidiens sur la trachée antérieure.Il obtint,également,des résultats similaires,en se basant sur le rapport H/P (0,1 chez l'animal normal, 0,5 pour l'animal greffé,0,7 pour l'hypophysectomisé).La fonction thyroidiemne se trouve donc à un niveau intermédiaire entre celle de l'animal normal et celle de l'animal hypophysectomisé.

Dernièrement,FLORSHEIM & KNIGGE (1961)(116) constatèrent que des pituitaires antérieures prélevées chez des rats venant de naître se développaient convenablement sur des animaux hypophysectomisés et que les lésions hypothalamiques,au niveau de la "zone de GREER" n'avaient aucune répercussion sur la croissance ou le fonctionnement de ces greffes.KNIGGE (187) trouva que de telles greffes sécrétaient de la TSH de façon normale,mais ne réagissaient pas à l'administration de PTU.

Par des méthodes histologiques,ARON & PETROVIC (7) décelèrent dans le lobe antérieur,un fonctionnement résiduel, soit après greffe au niveau des testicules,soit après hypophysectomie partielle.

En conclusion,on peut dire que la greffe de la pituitaire à un endroit éloigné de son site d'origine,démontre la réalité d'une ou plusieurs hormones hypothalamiques véhiculées par le système circulatoire.SCHREIBER (283-284-285-286-287-288-289) chercha à démontrer leur existence.Des extraits hypothalamiques de boeuf ou de lapin administrés à des rats hypophysectomisés

effectivement le développement de la thyroide.

Au contraire,des hypophyses regreffées au niveau de la selle turcique,après hypophysectomie,sont capables d'assurer une activité thyroidienne complète.Cette expérience est à la base de la théorie exposée par HARRIS en 1955.

- 5 - LOCALISATION DES HORMONES RADIOACTIVES DE LA THYROIDE.

Les hormones,à action anté-hypophysaire se localisent de façon élective,non pas dans le lobe antérieur,mais dans le lobe postérieur de l'hypophyse qui est un prolongement de l'hypothalamus.(JOLIOT 1944)(175-176),(COURRIER 1949)(76).Cette localisation a été démontrée par l'emploi d'hormones marquées,chez le lapin et le singe.Elle a été faite tout d'abord,pour la thyroxine (1951)(69),puis pour les différentes iodothyronines (1956) (79-80) qui se retrouvent deux heures après leur injection, dans le lobe postérieur de l'hypophyse.Cependant,les quatre hormones thyroidiennes s'y concentrant à des degrés divers.La fixation de T_3 porte,à cet égard,sur des quantités beaucoup plus grandes que celles de ses homologues;celle de T_4 et de T_2 sont équivalentes,celle de l'acide triodothyroacétique est minime.De plus,COURRIER,BACLESSE & GUYON (73) ont observé que la thyroxine détermine des modifications dans l'aspect du neurosécrétat hypothalamique chez le rat.De tels effets sont également signalées chez le Poisson (ARVY,FONTAINE 1956)(10) et chez l'oiseau (LEGAIT 1956)(199).

TAUROG,HARRIS,TONG & CHAIKOFF (308) trouvèrent dans de nombreux cas,chez le chien,le chat,le cobaye,le lapin et le rat, qu'il existait une concentration de ^{131}I très elevée dans l'hypophyse postérieur,ceci 4 à 5 heures après l'injection de thyroxine marquée.L'administration d'une dose élevée de propylthiouracile n'affecte pas le stockage de ^{131}I par la neuro-hypophyse TAUROG mit en évidence par chromatographie que l'Iode radioactif qui s'accumulait dans la pituitaire,s'identifiait avec le produit injecté.Il essaya plusieurs procédés pour modifier ce stockage de ^{131}I dans l'hypophyse:-section de la tige(le lobe neural atrophique continue le stockage,le pourcentage de fixatio tion est normal);-administration d'alcool (il n'y a pas inhibition du stockage de 131 I

dans la pituitaire postérieure); - la thyroidectomie,qui normalement produit un basophilisme de l'hypophyse antérieure et un accroissement du taux de sécrétion de TSH ne modifia pas,non plus,le stockage de la thyroxine par la pituitaire antérieure,et parut même augmenter ce stockage dans le lobe neural.

Parallèlement,MOREL & SIMON (1956)(241) montrèrent que chez le lapin,deux heures après une injection de thyroxine marquée,il existait dans la neuro-hypophyse une radioactivité plus élevée,quand la fonction antidiurétique de cette glande avait été stimulée,que lorqu'elle se trouvait à l'état de repos.

La signification de ces différentes constatations est difficile à donner de façon précise.Il est ,en effet,curieux que des hormones qui agissent sur l'activité de l'hypophyse antérieure se concentrent dans le lobe postérieur.Il existe certainement un lien entre le contrôle hypothalamique de la thyroide et cette concentration dans la neuro-hypophyse.

Pour certains,le contrôle de la TSH au niveau du lobe antérieur pourrait se faire par l'action de la thyroxine sur les cellules du lobe postérieur.Mais il n'y a pas de modification du stockage lors de la section de la tige.Pour TAUROG (308),cette concentration hormonale est sans spécificité et sans signification,mais alors il est difficile de comprendre pourquoi T_4 & T_5 s'y concentrent et pourquoi des produits de structure analogue ne s'y fixent pas.

En fait,SCHITTENHELM (282),dès 1932,avait écrit que la thyroxine augmentait la concentration en iodures du tuber cinereum,chez de nombreux animaux.Utilisant de la T_4 marquée à ^{131}I,HARPER(155),JENSEN (173),COURRIER (69) avaient confirmé cette localisation.FORD (117-118-119),en 1955,ainsi que COURRIER,en 1957 (81) avaient obtenu des résultats similaires avec T_3.Récemment,SAITO (277),(278),(1960),put montrer que la T_4 exogène augmentait la concentration de T_3 et de T_4 dans la zone antérieure de l'hypothalamus uniquement.

La même année,PURVES (256) émit l'hypothèse que le maintien du taux normal d'hormones thyroidiennes dépendait d'une désensibilisation du lobe antérieur à l'action de la T_4. L'interprétation de BROWN-GRANT (53) restait dans ce cas valable : cette concentration en hormone thyroidienne dans l'hypophyse postérieure serait la manifestation d'un mécanisme de protection du lobe antérieur à l'action inhibitrice des hormones circulantes.

- 6 - CULTURE DE TISSUS -

En 1936,HAYMAKER & ANDERSON (164) pratiquèrent des cultures de tissus hypophysaires qu'ils greffèrent au bout de 5 à 7 jours chez des rats hypophysectomisés.MARTINOVITCH (221) en 1950 utilisa la même technique,mais les résultats ne furent pas très probants.FLORSHEIM,IMAGAWA & GREER (115) en 1957 n'obtinrent aucune sécrétion de TSH par les tissus hypophysaires stimulés par des extraits hypothalamiques. C'est alors que TIXIER-VIDAL (310-311-312)(1957-1958) fit des expériences de cultures embryonnaires pour savoir si l'hypothalamus exerçait un contrôle sur l'hypophyse et sur la thyroide.La thyroide de l'embryon de 8 jours,cultivée,in vitro, au contact d'une hypophyse de même âge,réagit en 24 heures par l'élaboration d'abondantes gouttelettes de colloide,alors que la thyroide témoin en est presque totalement dépourvue. Suivant la nature du porte greffe,TIXIER-VIDAL observa des variations importantes dans l'intensité de la réponse thyroidienne à l'hypophyse.Certains tissus la favorisent (le foie, le muscle) alors que d'autres peuvent l'inhiber totalement (la rate,l'hypothalamus d'embryon agé ou de poussin).Elle se proposa alors de rechercher de quelle manière l'hypothalamus intervenait dans les premiers stades du fonctionnement embryonnaire.Des cultures hypophyse-thyroide furent faites en absence ou en présence d'hypothalamus.Dans le premier cas,la quantité de colloide élaborée dépend de l'âge total de la préparation. Dans le second cas,les différences,observées par rapport aux témoins,sont de l'ordre des variations individuelles constatées

lorsque l'on compare des coupes "hypophyse-thyroide" de même âge cultivées en l'absence d'hypothalamus.Ces expériences semblent donc indiquer qu'au stade précoce,l'hypothalamus n'exerce pas de contrôle important sur la fonction thyréotrope de l'hypophyse embryonnaire.

De telles conclusions ne concordent pas avec celles de GUILLEMIN & ROSENBERG (149) qui remarquèrent que l'hypothalamus était indispensable dans un milieu de culture.Il semble cependant probable que l'hypothalamus ne puisse exercer son contrôle en l'absence de substance neuro-sécrétoire.Or celle-ci n'apparaît qu'au quatorzième jour d'incubation selon GRIGNON (137-138-139-140).

Donc,il n'est pas exclu de penser qu'un contrôle hypothalamique intervienne plus tard après l'installation d'un véritable équilibre neuro-endocrinien entre l'hypophyse et la thyroide,ou même après l'éclosion,lorsque le poussin est soumis aux influences extérieures.

En résumé,la méthode de culture des tissus,ne donne pas de preuves très évidentes du contrôle hypothalamique de la thyroide.Seuls quelques résultats de HAYMAKER & ANDERSON (164) ainsi que ceux de MARTINOVITCH (221) semblent positifs.

- 7 - EVIDENCE MORPHOLOGIQUE -

Il était intéressant de savoir si des variations dans le métabolisme thyroidien étaient capables de modifier la voie neuro-sécrétoire.S'il en était ainsi,cela suggérait qu'il existait un lien constant entre l'hypothalamus et la thyroide. Mais tout d'abord,qu'entend-on par neuro-sécrétion et voie neuro-sécrétoire?

Pour SCHARRER (1954)(280) neuro-sécrétion signifie : sécrétion de cellules glandulaires pouvant être mises en évidence morphologiquement par la formation de produit granuleux de gouttelettes colloidales,à l'intérieur du cytoplasme et du neurone.Ces cellules neuro-sécrétoires peuvent être classées dans la catégorie des cellules à sécrétion interne.

Chez les Vertébrés,de telles cellules se trouvent dans les parois de l'infundibulum jusqu'à la post-hypophyse.De nombreuses techniques de coloration permettent de les mettre en évidence,ainsi les neurones de la voie neuro-sécrétoire peuvent être facilement différenciés.

Après section de la tige,on peut voir de nombreuses cellules neuro-sécrétoires dans la partie la plus éloignée de la section,mais elles sont très rares à son niveau (HILD, 1951) (161).

RANSON (257),dès 1939 avait montré que l'interruption du tractus supra-optico-hypophysaire,ainsi que l'ablation du lobe postérieur de l'hypophyse étaient cause de diabète insipide.On pensa alors que les hormones responsables,ADH ou vaso-pressine étaient liées à un vecteur de nature colloidale biologiquement inactif : la neuro-sécrétion.Cette hypothèse fut vérifiée par KRATZCH.

De semblables constatations,ont été faites par l'ocytocine : pendant la lactation,on note une diminution de volume de sécrétion;une rupture du tractus supra-optico-hypophysaire chez les femelles allaitant,produit une diminution de la quantité de lait.Au contraire,une stimulation électrique de l'hypothalamus stimule la sécrétion de lait.

Selon BARGMANN (17-18),l'ADH,la vaso-pressine,l'ocytocine peuvent être considérées comme des hormones purement hypothalamiques,la pituitaire postérieure étant en quelque sorte un réservoir.

On sait donc parfaitement maintenant que la neuro-sécrétion migre vers le bas;une fraction passe dans le fluide cérébro-spinal,une autre dans les capillaires de la neuro-hypophyse,une dernière dans le système porte où elle peut atteindre la pituitaire antérieure.Mais ce trajet,bien que le plus important,n'est pas le seul possible.

BARRY (21-22-23) démontra que chez la chauve-souris, certaines voies sécrétoires commençant dans les noyaux supra-optiques et para-ventriculaires atteignaient les zones éloignées de l'hypophyse :épithalamus,épiphyse...

LEGAIT (198-199-200) trouva également chez les Batraciens,les Oiseaux et les Reptiles,des voies extra-hypophysaires neuro -sécrétoires.Ces connections entre l'hypothalamus et d'autres parties du cerveau suggèrent une influence des hormones pituitaires postérieures sur le système nerveux central.Ceci explique que d'autres parties du cerveau puissent jouer un rôle dans le contrôle neuro-humoral des glandes endocrines,et,en particulier,de la thyroide.

On peut dire maintenant,en considérant le point de vue morphologique,qu'il existe des relations très étroites entre le système neuro-sécrétoire,le lobe pituitaire antérieur et le lobe intermédiaire.Mais il faut dire également que de nombreuses fibres sont en contact avec des capillaires qui arrivent à la pituitaire antérieure.On peut ainsi penser que l'action diencéphalique peut s'exercer par un intermédiaire chimique qui influence la sécrétion des hormones stimulantes (TSH).Mais,en tous cas,ce problème de la stimulation de la pituitaire antérieure ne peut être dissocié de celui de la neuro-sécrétion.

Si l'on considère plus spécialement les relations thyroide-hypophyse-hypothalamus,on voit que de nombreux auteurs ont apporté leur contribution sur ce sujet (FONTAINE (8-9-10-11-12),COURRIER (79),LEGAIT (201-202-203-204).Une hyperthyroidie expérimentale détermine dans les cellules hypothalamiques une certaine diminution de la substance neuro-sécrétoire. En même temps,il y a accumulation de cette substance au niveau du lobe postérieur (ARVY)(8-9-10-11-12).Une étude analogue fut faite par LEGAIT (201) chez la poule:chez les animaux en état de déshydratation complète,les cellules neuro-sécrétoires sont de grande taille,le noyau important,le cytoplasme de même,les granules de neuro-sécrétion sont rares,le lobe postérieur est pauvre en neuro-sécrétion et présente un aspect oedémateux,la glande thyroide est au repos.Au contraire chez les poules polyuriques,les cellules neuro-sécrétoires sont petites et bien colorées,la neuro-sécrétion est abondante,

la thyroide est active,ses cellules sont cubiques et l'on trouve une résorption des vacuoles dans le colloide.De tels résultats semblent montrer qu'il existe un certain antagonisme entre l'hypothalamus et la thyroide.

La mue correspond à une hyperthyroidie physiologique; les cellules neuro-sécrétoires sont par contre inactives. Une injection de T_4 produit une nette augmentation de la neuro-sécrétion.Ainsi,on peut conclure que lorsque dans le sang la thyroxine atteint un niveau important,l'hypothalamus ne présente plus d'activité et le lobe nerveux contient une grande quantité de neuro-sécrétion.

Les substances antithyroidiennes à doses élevées,possèdent une action toxique sur le système nerveux et en particulier sur le noyau hypothalamique.Les cellules contiennent peu de sécrétion alors que la thyroide est histologiquement active.

Ces constatations intéressantes conduisent à des résultats importants.Une perturbation du métabolisme thyroidien va avec une hypoactivité marquée de l'hypothalamus,et confirme la conception d'un mécanisme de "feed-back",c'est-à-dire de l'intervention de l'hormone thyroidienne au niveau de l'hypothalamus.Il est difficile de dire à l'heure actuelle si les hormones thyroidiennes agissent directement ou indirectement sur l'hypothalamus.Il est cependant intéressant de noter que des états d'hyperthyroidie marqués accompagnés de polyurie vont avec une certaine hyperactivité de l'hypothalamus.Au contraire,l'hyperthyroidisme avec diminution du métabolisme hydrique coincide avec l'hypoactivité des cellules neuro-sécrétoires.

Ce court examen montre que la neuro-sécrétion peut être modifiée par des changements du métabolisme thyroidien.Le mécanisme exact de cette action n'est pas clairement compris à l'heure actuelle,mais les résultats expérimentaux apportent une conclusion évidente d'une telle action.D'autres recherches surtout biochimiques,seront nécessaires pour élucider si ce mécanisme est direct ou si la stimulation passe un chemin plus compliqué.

- 8 - NEURO-STIMULATION EN PRESENCE D'HORMONES -

Les résultats concernant la neuro-sécrétion suggèrent qu'il serait intéressant d'explorer la fonction thyroidienne durant l'action d'hormones post-hypophysaires.Une exploration neuro-physiologique,en présence d'ADH,d'ocytocine,de LTH (FAURE)(103-104-105-106-107-108-109) s'est révélée fructueuse car elle a apporté des preuves complémentaires,concernant l'identification des régions hypothalamiques,jouant un rôle dans la libération de TSH.Il a été nécessaire pour une telle exploration,d'utiliser une technique particulière :"L'étude chronique,neurophysiologique et pharmacodynamique de l'animal éveillé et libre,par polygraphie et faible stimulation". (J.FAURE)(103-104),dont on peut résumer ainsi le principe : une faible stimulation électrique donne la valeur de l'état d'excitabilité du cortex;dans un second temps,un nouvel état cortico-sub-cortical est créé par la présence d'hormone,qui peut être stimulante,déprimante ou les deux successivement. Si cette hormone , différente naturellement de la TSH, modifie le contenu thyroidien,on peut supposer que le centre sur lequel elle agit de façon élective,intervient dans la physiologie thyroidienne.L'emploi de cette méthode a permis d'explorer des groupes d'animaux sur de longues périodes, de faire de nombreux contrôles,sans fatigue ni dommage pour le cerveau,et d'établir une corrélation entre le comportement, la balance neuro-végétative et l'état des centres,tout en complétant ce travail par une étude du métabolisme thyroidien.

Successivement FAURE (105-106-107-108-109),a envisagé l'action de l'ocytocine,de la lutéotrophine,de l'ADH,et il a pu en déduire qu'il existait dans l'hypothalamus une région à action stimulatrice (éminence médiane,noyau ventro-médian, partie pré-optique) incitant la production de TSH,et une région à action inhibitrice pour la TSH (région tubérale postérieure et latérale).

On peut donc conclure de telles expériences que l'hypothalamus joue un grand rôle dans la régulation de la fonction thyroidienne,mais que son rôle dépend de nombreuses influences, à action positive ou négative et agissant de manière modulée.

- 9 - ACTION DES EXTRAITS HYPOTHALAMIQUES -

Après les travaux de SAFFRAN et SCHALLY (274-275-276) et de GUILLEMIN (147-148-149) qui permirent l'isolement du CRF (corticotropin releasing factor),de nombreux auteurs essayèrent de déterminer la nature du composé déclenchant la production de TSH.Nous exposerons,dans le chapitre V de ce mémoire,les différentes expériences réalisées,en particulier, par SHIBUSHAWA,SCHREIBER,GUILLEMIN (150-?88 -293)etc... Nul doute,cependant,que dans un avenir très proche,on détermine la nature exacte de ce TRF (thyrotrophin releasing factor). Evidemment,c'est encore un sujet plein de promesses pour de nombreux chercheurs.

- 10 - ACTION DES SUBSTANCES PHARMACOLOGIQUES -

L'action de substances pharmacologiques capables de bloquer la décharge des stimulines de la pituitaire antérieure a fait également l'objet de nombreuses recherches.Mais cependant très peu de chercheurs ont essayé de bloquer la production de TSH.

Il semble prouvé à l'heure actuelle,que la réserpine possède une action définie sur le métabolisme thyroidien. Du côté expérimental,MAYER,KELLY & NORTON (224) en 1954,travaillant sur des fragments de thyroide vivante et étudiant le stockage de ^{131}I furent à même de démontrer un effet direct antithyroidien produit par la réserpine et la chlorpromazine, à fort dosage.En 1957,MEYNIEL,BLANQUET,et coll.(236) trouvèrent que chez le cobaye,l'administration d'une dose unique de réserpine ne modifiait pas de façon consistante le stockage de ^{131}I tandis que,si cette administration se prolongeait 10 à 15 jours,le stockage diminuait fortement.

Mais la meilleure démonstration d'une incidence hypothalamique de la réserpine et des substances similaires telles que la chlorpromazine,fut faite par BARRACLOUGH & SAWYER (19) également en 1957.Pour eux,"il est presque certain que la réserpine bloque la fonction hypophysaire,en interrompant l'accès au complexe mésencéphalique actif de l'hypothalamus".

L'action centrale et,en particulier,son incidence hypothalamique n'exclut pas naturellement la possibilité d'une action périphérique d'ailleurs mise en évidence par KUSCHE & GRUNER (191) en 1954.VANNOTTI (323) lui aussi,montra,in vitro,une action directe de la réserpine sur des fragments de rein mis à incuber avec de la thyroxine;l'addition de réserpine empêchant la formation de T_3,à hautes doses seulement.

La réserpine semble donc être le type de la "substance déconnectante"coupant les liens entre les formations du cerveau moyen et de l'hypothalamus;mettant ainsi en évidence l'importance des voies de la neuro-sécrétion hypophysaire.

En résumé,à l'heure actuelle,trois points importants peuvent servir de base aux théories futures expliquant le mécanisme de contrôle de la thyroide par l'hypothalamus.

- Dans l'hypothalamus antérieur existe une zone définie située entre les noyaux ventro-médian et paraventriculaire, une lésion ou une stimulation de cette aire provoque des modifications notables du métabolisme thyroidien.(GREER (130): lésions électrolytiques - HARRIS (158) : stimulation électrique BLANQUET (36) :destruction par des particules de haute énergie - YAMADA (334-335) : sensibilité aux injections de thyroxine.

- Cette zone sécrète probablement une substance neuro-humorale à action TRF (SHIBUSHAWA)(293).Ce facteur provoque la sécrétion de TSH et par conséquent de thyroxine.Sa concentration est élevée dans l'hypothalamus antérieur,faible dans le sang,son élimination se fait par voie rénale.

- Le taux d'hormones circulant joue un rôle important, puisqu'il règle,soit au niveau hypophysaire,soit au niveau hypothalamique,par son action freinatrice,le métabolisme thyroidien.

CHAPITRE II

TECHNIQUES ET METHODES D'EXPLORATION DE LA FONCTION THYROIDIENNE

L'évolution de nos connaissances concernant la physiologie thyroidienne est étroitement liée à celle des techniques d'investigation.

L'importance de la thyroide en temps que glande endocrine a été mise en évidence par les frères REVERDIN et Théodore KOCHER à la fin du siècle dernier.Les recherches chimiques ne tardèrent pas à être nombreuses,et,en 1895,BAUMANN (26-27) montra l'existence d'une substance organique iodée dans les hydrolysats thyroidiens,extractible par le chlorure de sodium. L'histoire de la glande thyroide fut,dès lors,liée à la présence dans ce composé d'un métalloïde particulier : l'iode.Ce n'est cependant qu'en 1915,que KENDALL (181-182-183) isola une substance active,la L-Thyroxine.HARINGTON & BARGER (154) réussissaient en 1927,à en effectuer la synthèse,puis successivement isolaient,identifiaient et synthétisaient la L-3-5 diiodotyrosine.

On savait depuis 1916,à la suite des travaux de MARINE & ROGOFF (216) que l'iode minéral d'origine exogène se concentrait électivement au niveau du tissu thyroidien,mais aucune précision physiologique valable n'avait pu être fournie.

Les points essentiels sur lesquels allait s'édifier toute la biochimie thyroidienne moderne étaient connus,mais nos connaissances,sur cette glande,devaient progresser,de façon rapide et spectaculaire,à la suite de la découverte par Irène et Frédéric JOLIOT CURIE (85) de la radioactivité artificielle (1934). La plupart des chercheurs modernes,en physiologie et biochimie thyroidiennes,utiliseront désormais 5 des 11 isotopes de l'iode 127.

Iode 125 (β ;γ)	période	60 jours
Iode 128 (β ;γ)	"	25 minutes
Iode 130 (β ;γ)	"	12,6 heures
Iode 131 (β ;γ)	"	8 jours
Iode 132 (β ;γ)	"	2,4 heures

De 1938 à 1942,l'iode 128 et l'iode 132 permettent à HERTZ (167),puis à HAMILTON & SOLEY (151),JOLIOT,COURRIER & coll (174-175-176), LEBLOND & SUE (196),MANN & Coll. (215),d'ouvrir la voie aux recherches radiochimiques relatives aux acides aminés iodés.

La brièveté de la période de l'iode 128 limitait son emploi: C'est incontestablement l'iode 131 qui convient le mieux car sa période (8 jours) est assez longue pour permettre une expérimentation convenable et,assez courte,pour que l'irradiation de l'organisme,et en particulier,celle de la thyroide,où il se concentre ne puisse devenir nocive.L'énergie élevée de ses particules β et de ses photons γ le rend facilement détectable. Il permet donc des études aisées " in vivo".

Les premières recherches furent faites en utilisant la seule technique des radioisotopes.On a pu ainsi montrer que l'iode se concentrait de façon très appréciable dans la glande thyroide,dans les minutes qui suivaient l'administration d'^{131}I et que sa fixation était très importante au bout de 24 heures. Elle pouvait atteindre chez l'homme 40 à 50% de la dose administrée.(HAMILTON & Coll.,1942)(152).

Mais rapidement,on s'aperçut,du bénéfice que l'on pouvait tirer de l'association de la technique radioactive avec les méthodes classiques de séparation et de dosage.Nous envisagerons donc les principaux résultats obtenus par l'utilisation conjointe de la chromatographie (sur papier et sur colonne) et de ^{131}I.Nous aborderons ensuite brièvement la chromatographie sur papier échangeur d'ions,qui ne s'est développée que ces dernières années , la chromatographie en couches minces,et la chromatographie circulaire.Enfin,nous dirons quelques mots de la méthode d'analyse par activation,qui met à profit la réaction,$^{127}I\ (n,\gamma)\ ^{128}I$,mais qui est encore réservée à quelques laboratoires privilégiés,proches d'un réacteur nucléaire.

I - CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER ET SUR COLONNE.

Parmi les nombreuses techniques proposées pour l'étude du métabolisme des dérivés iodés thyroidiens,c'est la chromatographie sur papier qui fut la première utilisée.

En 1947,FINK & Coll.(110-111) l'appliquèrent à l'étude d'un hydrolysat thyroidien.Depuis,elle a permis la caractérisation de cinq hormones thyroidiennes,de leurs précurseurs et de nombreux métabolites.Elle doit cependant être utilisée avec précaution,et,si elle peut servir avec profit pour des déterminations qualitatives,il n'en est plus ainsi dans le domaine quantitatif.Les inconvénients qu'elle présente ont conduit plusieurs auteurs à lui préférer la chromatographie sur colonne.

Appliquée à un hydrolysat thyroidien,la mise en oeuvre d'une chromatographie sur papier nécessite une extraction préalable des dérivés iodés.Si l'alcool butylique (208-244-306) à pH 1 est le procédé d'extraction le plus classique, quelques auteurs ont proposé l'utilisation des résines échangeuses d'ions (112-233-327).

L'extraction ne présente pas de graves inconvénients pour une détermination qualitative,mais elle n'est pas sans reproche lors d'une étude quantitative.L'extrait butanolique obtenu est soumis à une chromatographie ascendante ou descendante avec un solvant à réaction acide ou alcaline.

Tous les mélanges utilisés conduisent à une bonne séparation des iodures ,de la monoiodo-tyrosine,de la diiodotyrosine et du bloc des thyronines.Une séparation des thyronines entre elles nécessite l'emploi successif d'un solvant acide et d'un solvant alcalin,d'où l'obligation de réaliser une chromatographie bidimensionnelle,ou de se servir,comme le proposent ROCHE & Coll. (267) d'un mélange volatil.Plusieurs auteurs ont déjà rapporté des tableaux donnant les Rf des acides aminés iodés provenant d'hydrolysats thyroidiens en chromatographie sur papier (112-143-233-268).

Certains ont été conduits à utiliser cette méthode chromatographique (192-233) pour vérifier la pureté des composés séparés par les résines DOWEX,ou pour établir une étude comparative en fonction de différents solvants.Ces essais montrèrent que les solvants alcalins étaient susceptibles d'une action chimique non négligeable,en particulier sur la thyroxine.

C'est pourquoi,lorsque l'on effectue une radiochromatographie avec des substances aussi labiles que les acides aminés thyroidiens,il semble logique de ne pas trop prolonger l'opération,de ne pas utiliser des radioactivités trop grandes et de s'abstenir,chaque fois que cela est possible,de faire des chromatographies bi-dimentionnelles.La mise en place de témoins internes ou externes sur chaque chromatogramme est évidemment de rigueur.

Le déroulement des différentes phases de l'opération chromatographique a été développé par de nombreux auteurs (68-112-220);nous nous contenterons de donner un bref résumé du mode opératoire.Nous avons cependant limité la migration du solvant à 38 cm,afin de pouvoir placer le chromatographe en contact d'un film radiographique de 30 . 40 cm (KODAK - Régulix H S 2).

A l'aide d'une micropipette calibrée,on dépose une quantité connue de produit à analyser au niveau du repère supérieur. Après séchage,la feuille est mise dans la cuve à chromatographie,en présence de la phase fixe saturant l'atmosphère. Au bout de 24 heures environ,lorsque l'équilibre est obtenu, l'éluant ou phase migrante est introduit dans le récipient support de papier.L'élution dure de 12 à 48 heures suivant le solvant utilisé.

Dans le cas des iodotyrosines et des iodothyronines,le développement peut être effectué à l'aide de différents solvants.Comme la chromatographie sur papier doit être une opération de partage,il est nécessaire d'ajouter au système eau-phase non polaire,un composé polaire partiellement miscible aux deux phases,afin d'empêcher l'adsorption qui inter-

férerait avec le partage,

Nous avons pratiqué des séparations avec plusieurs mélanges éluants :

n - butanol - acide acétique -eau ,80v/20v/100v.
n - butanol - ammoniaque 2 N,à parties égales
n - butanol - éthanol -eau ,4v/1v/5v.
n - butanol -dioxane - ammoniaque 2N , 4v/1v/5v.
collidine - eau en atmosphère saturée d'ammoniac 100v/3,5v
phénol saturé d'eau en atmosphère d'ammoniac.

Lorsque le front du solvant atteint la limite fixée,on procède au séchage du chromatogramme.La révélation des différents spots se fait à l'aide de réactifs appropriés (nihydrine, réactif de Pauly (93),réactif de Bowden et Mac Lagan (45)).

La radiochromatographie des substances marqués est alors obtenue par méthode directe,ou par mise en contact du papier avec des émulsions sensibles (183 - 205 - 207 - 208 - 324). Pour procéder à la mesure de la radioactivité le long du papier,on peut opérer de différentes façons:

- on peut découper le papier parallèlement à la direction de migration du solvant,en fines bandes,et analyser ces bandes 1/4 de cm par 1/4 de cm en les déplaçant sous un compteur bien focalisé.On obtiendra,ainsi,une courbe de radioactivité en portant en abcisses les distances à partir du point zéro (correspondant au spot de départ) et en ordonnées,les radioactivités obtenues.Cette manipulation est réalisée de façon automatique avec le passeur de chromatogramme TRACERLAB (SC.55AR)

- une variante de ce procédé consiste à découper la bande de papier en fractions de 1/2 cm perpendiculairement à la direction de migration,on déterminera la radioactivité de chacune de ces fractions dans un compteur non focalisé.Il est naturellement indispensable de se placer dans les meilleures conditions d'efficacité et de rendement de comptage.Cette manipulation est alors réalisée de façon quasi automatique avec le passeur d'échantillons TRACERLAB équipé d'un cristal puits. (SC 57 A).

Enfin,pour conserver la reproduction exacte de ces chromatogrammes,nous les avons mis en contact avec des films radiographiques sensibles.La précision de cette technique est d'ailleurs grande,puisqu'il est possible d'augmenter le temps d'exposition et d'intégrer les effets photographiques des radiations émises pendant le temps de pose.En fait,on ne peut pas laisser les chromatogrammes très longtemps en contact avec le film.Au bout d'un certain temps,il se produit des réactions spontanées se traduisant par des zones sombres qui le voilent plus ou moins.De bons résultats sont obtenus pour des expositions de 8 à 15 jours,soit dans le cas de l'Iode 131,une exposition de 1 à 2 périodes.

La chromatographie sur colonne n'est pas une méthode d'investigation plus délicate que la chromatographie sur papier. Elle nécessite,cependant,plus de travail pour l'expérimentateur,puisqu'il ne suffit plus de déposer une goutte d'un mélange complexe sur un papier et de laisser le chromatogramme migrer,mais au contraire,de faire appel à un séparateur de fractions et au comptage de nombreux tubes.

En 1951,ROSENBERG (271) publia une technique de séparation des acides aminés iodés sur cellulose,puis GRONKVIST & HELLBERG (141) d'une part et GROSS & PITT-RIVERS (146) d'autre part, suggèrèrent l'emploi des colonnes de Kielselghûr.Enfin,en 1953, DOBYNS & BARRY (95) utilisèrent l'amidon.

La méthode au kieselghür,tout d'abord décrite par GROSS & PITT-RIVERS (146) a fait l'objet de modifications heureuses de la part de BRAASCH (48).Nous n'entrerons pas dans le détail de la préparation du kieselghür,qui,bien que délicate est beaucoup plus facile à réaliser que celle de l'amidon dans la technique de DOBYNS & BARRY (95).L'élution de T_4,T_3,I^-,est faite au moyen d'un mélange de chloroforme à 20% et de n-butanol (volume à volume),saturé avec NaOH 0,5 N.Après élution de ces trois substances,le solvant est remplacé par le mélange n-butanol - n-propanol - NaOH 0,05 N (9/1/1). Dans ces conditions,la colonne cède MIT et DIT parfaitement séparées.L'étalonnage est effectué au moyen de substances

pures radioactives ou non,et le rendement de la méthode est ainsi déterminé.Il est de l'ordre de 90 à 98% pour chacun des acides aminés iodés.

Pour DOBYNS & BARRY (95) les colonnes d'amidon subissent une préparation minutieuse selon la technique de STEIN & MOORE (304).L'éluant utilisé est le système butanol - propanol-eau (1/2/1V),l'identification des pics est également exécutée à partir de solutions pures d'acides aminés.Cette méthode a été étendue ensuite à l'étude des hydrolysats thyroidiens.L'emploi de l'éluant butanol-propanol-HCl fournit une séparation partielle des acides aminés thyroidiens,mais ne permet pas,cependant,d'effectuer la séparation MIT - DIT.L'utilisation d'un éluant alcalin butanol-propanol-CO_3Na_2 0,05 N (1/2/1 v)permet par contre,de l'effectuer.Dans ces conditions la MIT est éluée, et la DIT reste sur la colonne.La combinaison des deux éluants, acide et alcalin,permet de résoudre le problème : l'élution est commencée en phase alcaline (la colonne cède successivement T_4,I^-,MIT),poursuivie ensuite en phase acide pour libérer la DIT.La séparation ainsi obtenue est de très bonne qualité.

Les deux techniques sont excellentes,les seules critiques que l'on puisse leur adresser sont la préparation de la colonne (opération délicate surtout dans le cas de l'amidon),et le fait que l'iodure participe à l'élution.

Aussi BLANQUET et coll.(33-34-233-234-235) ont-ils pensé qu'il serait intéressant d'exclure définitivement l'iodure dès le début de l'opération,car on sait avec quelle facilité il est capable de s'échanger.Dans ce but,nous avons utilisé les résines échangeuses d'ions et,en particulier,les résines anioniques du type DOWEX 1X2,qui possèdent une sélectivité remarquable pour cet ion.(33-34-233-234-235).

L'iodure présent dans l'hydrolysat est donc immédiatement échangé au sommet de la colonne et l'élution est faite par un mélange d'HCl - n-Butanol.Si l'on prend soin de se servir de résine DOWEX 1X2,spécialement purifiée pour usage chromatographique par BIORAD LABORATORIES - BERKELEY -CALIFORNIE,c'est-à-

dire à très faible pourcentage en divinylbenzène (2%) et qui sont constituées par des grains de diamètre compris entre 39 et 71 µ (200-400 mesh selon la nomenclature américaine), on obtient une excellente séparation des acides aminés iodés. Il importe cependant de tester chaque lot de résine, dès sa réception au moyen de substances pures marquées, car certains envois, en particulier ceux qui fournissent une coloration rougeâtre par traitement alcalin sont impropres à une séparation correcte des acides aminés iodés.

Tous les paramètres qui ont conduit à la mise au point de cette méthode, ont été étudiés par MEYNIEL (233). Cette technique n'est pas supérieure aux précédentes mais elle a le grand mérite d'être beaucoup plus sensible et plus rapide. En effet, la préparation de la colonne est pratiquement immédiate puisqu'il suffit de permuter la résine sous sa forme OH^- par traitement à NaOH ou mieux à NH_4OH pour la rendre prête à l'emploi.

Nous avons cependant été conduit à modifier la technique d'élution, ayant constaté un rendement moyen de 90% seulement. Nous avons dés lors utilisé l'acide acétique à des concentrations croissantes, il donne une meilleure séparation et permet, de plus, de différencier une fraction " Protéine iodée". C'est pourquoi nous employons actuellement la série d éluants suivante :

Acide acétique 6% : protéine iodée
Acide acétique 2,5%: MIT
Acide acétique 45% : DIT
Acide acétique 80% : Thyronines

Ces différentes solutions renferment comme précédemment 3,75% de n-butanol. Dans ces nouvelles conditions opératoires, le rendement est toujours supérieur à 95%.

Cette technique a été reprise par GALTON & PITT-RIVERS (121) qui se servent pour l'élution de solutions tampons : acide acétique -acétate de soude de pH croissant.

Enfin, LISSITZKY (209) a publié une méthode de séparation des acides aminés iodés utilisant de la DOWEX 2X8, dont il effectue l'élution au moyen d'acide formique.

Mais s'il est intéressant de savoir ce qui se passe à l'intérieur de la thyroide,il est plus pratique, du point de vue clinique,de déterminer,comment la glande libère ses hormones dans le sang,et à quelle concentration.

Il faut tout d'abord indiquer que les recherches portant sur le plasma ont suivi la même évolution que les travaux concernant la glande thyroide.Dans un premier temps,on a cherché à connaître avec précision quelle était la nature des substances iodées véhiculées par le sang et pour ces recherches l'iode 131 et la chromatographie sur papier ont été largement utilisées (TAUROG & CHAIKOFF)(307),(GROSS & Coll.) (144),(ROCHE,LISSITZKY & MICHEL)(266).Ensuite,on s'est appliqué à faire des déterminations quantitatives sur les composés iodés du plasma.Dès 1949,on avait montré que la T_4 ne circulait pas seule,mais associée à une protéine (Thyroxin binding protein = TBP).Le lien contracté avec cette protéine était assez labile pour que la simple extraction du plasma par le butanol acide suffise à libérer l'hormone,mais assez fort cependant, pour que la dialyse ne puisse réaliser la même opération. De même,le traitement du plasma par l'acide trichloracétique entrainait la précipitation de l'hormone,en même temps que celle de la protéine.

Cette association hormone-protéine fournit une méthode d'investigation plasmatique particulièrement simple.Il s'agit de la technique connue sous le nom de PBI (Protein bound iodine) Enne consiste simplement à précipiter un échantillon de plasma au moyen d'une petite quantité d'acide trichloracétique,puis à centrifuger à grande vitesse pour séparer le précipité du surnageant.Après lavage soigneux de ce précipité,il est compté sa radioactivité correspondant au taux d'hormones contenu dans la prise d'essai.Le PBI semble être une méthode très valable et rapide,lorsque tous les éléments plasmatiques sont normaux.Mais il peut conduire à des conclusions érronées dans divers cas pathologiques (cancer (264-265),maladie de HASHIMOTO (249)).En effet,si la fraction précipitée ne correspondait qu'aux hormones,on devrait,en extrayant celles-ci du plasma par un solvant approprié,retrouver la même radioactivité après

extraction et par précipitation.Or il n'en est rien.

Il est facile d'extraire du sang les hormones thyroidiennes en agitant à plusieurs reprises le plasma,avec du butanol acide.Les fractions butanoliques sont réunies et leur radioactivité totale mesurée.Cette méthode est connue sous le nom abrégé de BEI (butanol extractible iodine).Le BEI est une technique préférable puisqu'il s'agit d'une extraction sélective les albumines iodées et la thyroglobuline étant insolubles dans le butanol acide.Mais la technique du BEI,apparemment très simple,est assez délicate à mettre en oeuvre,en raison des émulsions qui se forment très souvent avec les lipides et qui rendent ce test difficile.

C'est pourquoi,un très net progrès a été accompli par l'apparition du test H/P.Dès 1944,JOLIOT & Coll.(175) avaient montré que l'iodure radioactif se répartissait entre les hématies et le plasma,tandis que la T_4 marquée ne pouvait pénétrer dans les hématies et restait par conséquent dans le plasma. En 1951,SCOTT,REAVIS,SAUNDER & WHITE (300) utilisèrent cette constatation en clinique humaine en mesurant le rapport de la radioactivité d'un poids "p" d'hématies à la radioactivité d'un même poids "p" de plasma.Par la suite,WHITE (329),COURRIER & Coll. (82) ainsi DECOURT (89) firent une étude approfondie de cette méthode d'analyse.

Récemment,une méthode,faisant appel à la chromatographie et aux résines échangeuses d'ions,a permis d'éffectuer rapidement et très simplement une bonne séparation des différents composés iodés contenus dans le plasma (BLANQUET & Coll.1960) (35).Le résultat est facilement obtenu par passage de 2 ml de plasma sur un système de 2 microcolonnes contenant une résine cationique et une résine anionique.Ces 2 microcolonnes de petit diamètre sont placées l'une en dessous de l'autre,la supérieure contient la résine cationique DOWEX 50X2 sous sa forme H^+, l'inférieure la résine DOWEX IX2 sous sa forme Cl^-.Lorsque les 2 ml ont pénétré la colonne supérieure,on effectue simplement une élution des deux résines au moyen de 15 ml de NaCl à 0,9%

Les thyronines restent fixées sur la résine cationique DOWEX 50, alors qu'une fraction protéique, s'écoule à la base du système où on la recueille. Les iodures sont bloqués et échangés sur la 2ème colonne DOWEX 1X2.

La détermination quantitative est particulièrement aisée puisqu'il suffit de placer chacune des microcolonnes dans le puits d'un compteur à scintillations et de mesurer également l'activité de l'éluat.

Le passage sur résine suffit à briser la cénapse protéique des hormones qui restent accrochées sur la DOWEX 50. On obtient ainsi la fraction d'hormone active. Cette méthode présente, en outre, l'avantage de permettre l'analyse sur 2 à 3 ml de plasma. Par conséquent, en raison de ce volume, les radioactivités mises en jeu, sont environ mille fois supérieures à celles que l'on utilise en chromatographie sur papier. Cette remarque suffit à expliquer que la fraction de protéine iodée, non hormonale, isolée par la méthode des résines ait pu passer inaperçue en chromatographie sur papier.

La méthode est générale et peut être utilisée aussi bien dans le cas d'expérimentations sur l'animal qu'en clinique humaine. Elle apporte des résultats que les autres tests ne donnaient pas :

pourcentage des iodures circulants (fraction 1)

pourcentage des hormones indirectement liées aux protéines (fraction 2)

pourcentage des iodoprotéines non hormonales (fraction 3)

II - LES POSSIBILITES NOUVELLES DE LA CHROMATOGRAPHIE

LES PAPIERS ECHANGEURS D'IONS :

La première synthèse des échangeurs d'ions fut réalisée en 1935, par ADAMS & HOLMES (4). Mais la chromatographie sur papier échangeur d'ions ne s'est développée que ces dernières années. Il semble bien établi que le comportement de ces papiers échangeurs soit analogue à celui des mêmes échangeurs en colonne (197 - 305 -330).

Cependant,ils présentent un avantage.Ils permettent d'opérer plus rapidement et sur de faibles quantités.Cependant,on a n'a plus une chromatographie de partage.En effet,au mécanisme de partage,se superposent,d'une part,le mécanisme d'échanges ioniques,entre la solution et la résine,d'autre part,le phénomène d'adsorption sur la résine.

Un choix convenable du papier peut laisser espérer la séparation des iodures et des diverses fractions iodées,organiques,d'un hydrolysat thyroidien.Se rapportant aux résultats des séparations chromatographiques sur papier échangeur,(213) G.GAILLARD (120) a envisagé une séparation possible sur citrate de cellulose,phosphate de cellulose,amino-éthyl-cellulose,di-éthyl-amino-éthyl-cellulose (papier WHATMANN).Cet auteur a obtenu les meilleurs résultats sur D.E.A.E ayant subi un lavage à NH_4OH 2 N,puis au $ClNH_4$,pour qu'il ne soit pas alcalin. L'élution est réalisée par une solution d'acide acétique à 4% additionnée de 3,75 de n-butanol,en chromatographie descendante. Après révélation à la ninhydrine,ou radiochromatographie,on constate que les spots s'échelonnent à la manière suivante vers le front du solvant :peptides iodés,thyronines,diiodotyrosine,monoiodotyrosine et iodures.

Les spots obtenus sont beaucoup plus réguliers qu'en chromatographie ordinaire,et il n'y pas de trainée radioactive.

Cette méthode,que nous avons également expérimentéd (non publié) et qui nous a conduits aux mêmes résultats que G.GAILLARD est aussi facile à mettre en oeuvre que la chromatographie sur papier ordinaire,mais elle présente un grand intérêt par rapport à cette dernière,elle peut être quantitative.

LA CHROMATOGRAPHIE EN COUCHES MINCES :

Les premiers essais de chromatographie d'absorption en couches minces remontent à 1938 (ISMAILOV. & SHRAIBER) (172). Mais ce n'est qu'en 1951 qu'elle a été réellement étudiée par KIRCHNER et Coll.(186),perfectionnée par REITSEMA (260),(261) enfin,normalisée par STAHL (303).

Elle se révèle aujourd'hui comme universelle dans ses applications.Elle permet,en effet,de séparer les substances indifféremment lipo ou hydrosolubles,présentent l'avantage d'une grande rapidité alliée à une sélectivité et à une sensibilité souvent supérieures à celle de la chromatographie sur papier.Le matériel nécessaire,en pratique,simple et peu couteux,est actuellement commercialisé.(STAHL)(303),(BARBIER)(16),(MACHATA)(212),(MOTTIER)(242).L'adsorbant le plus couramment employé est l'acide silicique (silicagel).Ses propriétés chromatographiques à la fois souples et sélectives,et le fait qu'il peut être adapté à la séparation des corps liposolubles (par adsorption) et à celle des corps hydrosolubles (par partage),justifient cette préférence.

Cependant,les films actifs utilisés pour la chromatographie doivent respecter certains critères,que STAHL (303) s'est attaché à bien préciser.Cet auteur tient compte,pour définir les normes,de 3 propriétés fondamentales des chromatoplaques: pouvoir séparateur,propriétés capillaires,résistance mécanique. Dans le choix du solvant du développement,la règle est d'accorder la polarité du solvant à celle du mélange à séparer. On s'adressera donc à la série dite "éluotrope" pour effectuer un premier choix.Une détermination plus précise du meilleur solvant peut ensuite être faite par la microtechnique circulaire de STAHL (303).Pour une mise en archives de ces microchromatogrammes,la méthode la plus simple consiste à les photographier (STAHL) (303),ou à les inclure dans la paraffine (MOTTIER)(242).

NIEDERWIERSER & PATAKI (246) ont fort bien défini les avantages présentés par cette technique pour la séparation des acides aminés,peptides et dérivés.Comparant un chromatogramme bidimensionnel d'acides aminés sur papier,avec le même (solvants et dimensions identiques) effectué sur silicagel, ces auteurs soulignent : - la diffusibilité relativement réduite des substances dans la couche silicique ;les taches obtenues étant petites,les séparations sont meilleures,et la méthode devient environ 10 fois plus sensible que la chromatographie sur papier.

- l'obtention d'une séparation de incomplète de 10 Acides aminés sur papier (après un développement de 10 cm dans chacune des dimensions) alors que 14 de ceux-ci se séparent parfaitement sur acide silicique.

Solvants utilisés : A/ n-butanol-acide acétique-eau (60/20/20 v)

B/ phénol-eau,75/25 poids

- la durée du développement réduite, pour une dimension à 1H30 -2H sur chromatoplaque.Ces chromatoplaques siliciques possèdent de plus une excellente sélectivité.La séparation de peptides isomères (HUGUENIN & BOISSONNAS) (171),par exemple glycyl-leucine et leucyl-glycine,s'effectue facilement.

MUTSCHLER & ROCHELMEYER (245) ont utilisé la chromatographie bidimensionnelle pour un mélange de 14 acides aminés. La très belle séparation obtenue a été confirmée par BRENNER et NIEDERWIERSER (49).Ces auteurs ont constaté que parmi les solvants habituellement employés en chromatographie sur papier ceux riches en butanol,éthanol ou acétone,donnent de bonnes déparations,mais les taches sont relativement diffuses.On obtient de bien meilleurs résultats,en chromatographie bidimensionnelle, avec les systèmes indiqués ci-dessus.

Les couches siliciques utilisées pour la séparation des acides aminés ne doivent pas être activées à chaud,mais simplement séchées à la température ambiante et à l'air libre. On dépose 1 à 5 µg d'acide aminé et on stoppe habituellement le développement après un parcours du front du solvant de 10 cm environ.

Les valeurs de Rf sont reproductibles à $\pm$ 0,05 près.Pour révéler ces microchromatogrammes,on les sèche à 110° pendant 10 minutes, puis on les soumet à une pulvérisation soigneuse du réactif à la ninhydrine modifié par MOFFAT & LYTLE (238).On chauffe à nouveau,en suivant par transparence,l'apparition graduelle des taches colorées.

L'avantage primordial de la chromatographie de partage des acides aminés en couches minces réside dans l'économie de temps réalisée (4 ou 5 heures pour un chromatogramme bidimensionnel, contre 2 - 3 jours pour un chromatogramme sur papier).

MOTTIER (242) a également étudié le comportement chromatographique d'acides aminés provenant d'hydrolysats protéiques sur plaques d'alumine.Sa technique est caractérisée par le fait que les couches absorbantes ne contiennent pas d'agents liants,ce qui les rend fragiles.On peut se demander si les chromatoplaques conventionnelles évidemment moins délicates ne pourraient les remplacer avec profit.

Enfin,G.GAILLARD (120) a réalisé un grand nombre d'expériences,en combinant les supports et les solvants,à partir de solutions de MIT,DIT,T_4 et iodure.Cette méthode ne semble pas encore applicable à la séparation fine des constituants d'un hydrolysat thyroidien.Néanmoins,elle demeure intéressante dans ce domaine biologique,car elle permet une recherche préliminaire rapide,donnant une idée de la nature d'un mélange dans un délai de 30 à 60 minutes,et conduit,ce qui est essentiel pour son application,à l'étude du métabolisme thyroidien,à la séparation de trois fractions : iode minéral,iodotyrosines, et iodothyronines.

LA CHROMATOGRAPHIE CIRCULAIRE HORIZONTALE :

A côté des techniques ascendante et descendante,mono et bi-dimentionnelles,la méthode horizontale offre des avantages dans certains cas : vitesse de l'opération,plus grand pouvoir de séparation de substances migrant étroitement ensemble, commodité du matériel.Le principe de la technique a été posé par RUTTER (272-273),mais modifié par de nombreux auteurs (125-292).La chromatographie radiale peut être de partage, d'adsorption,ou d'échange d'ions,selon qu'elle est utilisée sur papier,avec une couche d'adsorbant solide,ou avec une cellulose modifiée par fixation de groupes acide ou basique.

Les techniques de KRISHNAMURTY & SWAMINATHAN (189) utilisant la chromatographie circulaire sur papier, donnent des résultats remarquables dans le cas des acides aminés, mais elles ne sont pas encore devenues des méthodes de routine.

GIRI (126-127) & PROOM (253) furent sans doute les premiers à employer cette nouvelle méthode. Divisant leur papier en 5 secteurs identiques, ils parvinrent à obtenir des spots de la plupart des acides aminés. Ils essayèrent même de donner une expression quantitative à ce mode de chromatographie. CHARTIER (65) montra également qu'il était possible de faire des déterminations quantitatives. Plus récemment, ROQUE PROENCA da CUNHA (270) reprit le problème avec la technique de Mc FARREN (225), en s'attachant à la séparation des acides aminés présents dans des hydrolysats protéiniques. Enfin, au moyen d'un appareil de KAWERAU (178) modifié, ROBINSON & TARGETT (265) essayèrent de déterminer les solvants les mieux appropriés.

III - L'ANALYSE PAR ACTIVATION

Les techniques d'analyse des éléments à l'état de traces, aussi bien dans les milieux biologiques que dans les métaux ou les minéraux, ont trouvé un essor nouveau à l'occasion du développement de l'analyse par activation. De nombreux éléments peuvent être dosés à des concentrations inférieures, au microgramme, grâce à la radioactivité induite, lorsque les échantillons sont exposés au bombardement de particules nucléaires. La technique a été introduite pour la première fois par HEVESY et LEVI en 1936.

Cependant, l'application de la technique au matériel biologique a attiré l'attention de nombreux chercheurs. Les premiers exemples sont rapportés par TOBIAS & DUNN (314) et par KEYNES & LEWIS (184-185). Avec la multiplication des réacteurs, il est maintenant certain que dans de nombreux laboratoires, se développera l'analyse par activation.

De nombreux articles ont été écrits sur les principes généraux et les méthodes d'analyse par activation (BOYD)(47),

(BROOKSBANK) (52)(LEDDICOTTE)(194-195)(LOVERIDGE & SMALES) (211) (SMALES)(301)(TAYLOR & HAVENS)(309)(MEINKE)(226-227-228)... Nous nous contenterons d'envisager le cas de l'iode 128 dans le domaine de la recherche biologique et médicale.

L'analyse par activation par neutrons est sensible et spécifique.La spécificité de la méthode est due aux propriétés nucléaires des radioisotopes,et du fait de la spécificité, on peut analyser plusieurs éléments dans un échantillon par des méthodes physiques,sans séparation chimique des éléments. Cependant,dans le cas d'interférences entre plusieurs substances radioactives,la séparation chimique devient nécessaire. Elle peut être faite avant ou après irradiation.Elle fait appel aux méthodes chimiques classiques avec adjonction d'un entraineur,ou aux résines échangeuses d'ions.(WOLFE & TOBIAS)(332).

Nous reprendrons,pour établir la liste chronologique (29-43-46-58-59-60-67-96-179) des différentes expériences faites par activation de l'iode 127 sous forme d'iode 128,le tableau publié par KWAN HSU (170) (Tableau I).

Cependant nous insisterons sur les deux techniques (67) qui ont été utilisées en France.Ces deux méthodes ont été employées pour le dosage de l'iode sanguin.L'une comprend une séparation chimique de l'iode avant l'irradiation,et la mesure de la radioactivité est effectuée à partir de l'amplitude du pic photoélectrique de ^{128}I obtenue par spectrométrie; sa sensibilité est de l'ordre de 10^{-8} g.L'autre comprend une séparation chimique de l'iode après irradiation et la radioactivité de ^{128}I est mesurée par comptage avec un compteur GEIGER ; sa sensibilité est de l'ordre de 10^{-10} g.Cette méthode a été appliquée au dosage de l'iode lié aux différentes fractions iodées plasmatiques par COMAR & BLANQUET (179).Un traitement du sérum sanguin par les résines échangeuses d'ions permet de séparer la fraction protéique iodée hormonale de la fraction protéique non hormonale.Le dosage de l'iode 127 ainsi

AUTEURS ANNÉE	Source de neutrons flux neutrons cm^2/sec durée de l'irradiation	Matériel ou Tissu	Pourcentage détecté	Méthode d'analyse	REMARQUES
BRUES et ROBERTSON 1947 - 1950	Réacteur d' Argonne	Thyroglobuline 4,8 et 9,9 mg Thyroide de truite		Comptage au G.M	Détermination de l'activité de ^{128}I en présence de ^{32}P Détermination de l'activité de ^{128}I en présence de vanadium
BRUES et GUSTAFSON 1954	Réacteur d' Argonne	muscle de chien tumeur de chien	7,1 µg/g sec.		^{56}Mn et ^{32}P sont également déterminées
BLANCHARD 1959	Reacteur au graphite d' OAK RIDGE $6,5 \times 10^{11}$ 16 heures	eau de boisson de différentes villes	0,002 - 0,027 ppm	en présence d'entraineur Spectrométrie γ	ne fut pas fait selon les méthodes conventionnelles
BOWEN 1959	BEPO Harwell 10^{12} 30 minutes	sang humain grains de tomates solution nutritive	0,0419 µg/g a 376 µg/g 0,00136 µg/g	en présence d'entraineur	limite de détection 10^{-10} g

TABLEAU I

AUTEURS ANNÉE	Source de neutrons flux neutrons cm^2/sec durée de l'irradiation	Matériel ou Tissu	Pourcentage détecté	Méthode d'analyse	REMARQUES
BORN et STARK 1959	type Pool 5×10^{12} 25-30 minutes	diiodotyrosine 0,5, 2, et 10 µg		chromatographie sur papier et compteur G.M.	souillures de ^{24}Na et ^{38}Cl
DOWLING et WAGNER 1960	AGN 201 M $2,25\ 10^8$	urine	2 µg	spectrométrie γ	Bromure dans l'urine détecté jusqu'à concurrence de 10 µg
KELLERSHOHN et coll. 1961	Gif sur Yvette 6×10^{12} 30 minutes	sang	- 4,85 - 6% µg / 100 ml en considérant ou non l'activité de ^{131}I - 3,95 µg / 100 ml	séparation chimique avant l'irradiation spectométrie γ séparation chimique après l'irradiation Compteur GM	sensibilité = 10^{-8} g sensibilité = 10^{-10} g
COMAR BLANQUET et coll. 1963	Gif sur Yvette 6×10^{12} 30 minutes	sang	0,5 µg / 100 ml	2 compteurs GM montés en parallèle	80% de l'iode protéique sous forme normale

TABLEAU I

séparé a été pratiqué sur le sang de sujets normaux et pathologiques.Les résultats montrent que chez les sujets normaux,environ 20% de l'iode protéique se trouve sous forme non ho monale.

Pour aussi récente qu'elle soit,(25 ans environ) la technique d'analyse par activation n'en a pas moins d'ores et déjà trouvé de nombreuses applications dans le domaine biologique. Mais son essor est actuellement freiné par le fait que le laboratoire qui l'utilise doit se trouver à proximité d'un réactif nucléaire,d'une part,et par le coût élevé de ce genre de manipulations,d'autre part.Magnifique instrument de recherche,il ne lui reste plus qu'à devenir l'instrument de l'analyse de routine.

CHAPITRE III

LA STEREOTAXIE

Nous avons vu dans l'introduction que la mise en évidence du contrôle hypothalamique de la thyroide avait été effectuée essentiellement, à la base, grâce à des expériences de stéréotaxie, en particulier celles de GREER & Coll.(130) HARRIS & Coll (158), GANONG (122), FLORSHEIM (114) etc...Il faut souligner que ce fut vraiment GREER l'initiateur de ce type d'expériences et que c'est pratiquement à lui que l'on doit de connaitre aujourd'hui, avec quelques précisions, les relations hypothalamo-hypophyso-thyroidiennes.

Comme nous l'avons vu, TOBIAS & BLANQUET (36-313) avaient de leur côté effectué des expériences de lésions portant sur l'hypothalamus, non par stéréotaxie, mais grâce au faisceau de particules de haute énergie provenant du cyclotron de BERKELEY.

Etant donné l'intérêt de ce type d'expériences, nous avons voulu réaliser des lésions stéréotaxiques localisées à différentes régions de l'hypothalamus antérieur, conjointement avec une étude histologique précise de la zone lésée et avec un bilan thyroidien aussi complet que possible, de l'animal en expérience.

En effet, souvent jusqu'ici, les chercheurs n'avaient pas pratiqué de bilan complet du métabolisme thyroidien. Nous avons donc pensé qu'il serait intéressant de connaître :

- la situation exacte de la lésion,
- le poids des différentes glandes endocrines, comparativement à celles des témoins normaux,
- la fixation de l'iode à 48 heures,
- la concentration hormonale plasmatique exprimée en coups/minute/ml de plasma et en pourcentage,

Nous donnerons ci-dessous quelques détails sur les différentes techniques que nous avons utilisées.La partie stéréotaxique n'a pu être réalisée que grâce à l'obligeance de Monsieur le Professeur J.FAURE.

TECHNIQUE EXPERIMENTALE :

LA STEREOTAXIE.

L'appareil stéréotaxique utilisé est celui de JOHNSON-KRIEG,type JOHNSON 200 pour le Rat blanc.L'atlas employé fut d'abord celui de KRIEG (188),puis celui de DE GROOT. Une légère correction fut faite,quant aux repères,pour adapter le "stéréotaxide" de JOHNSON-KRIEG à l'atlas de DE GROOT (142) L'animal d'un poids voisin de 250 g,une fois mis en place les oreilles prises dans les embouchoirs,les incisives dans la plaque de contention,voit sa tête subir une traction jusqu'à ce que le bregma (le crane étant dénudé),se trouve à la graduation 52,6 mm du plan antéro-postérieur,et le lambda à 46 mm (parfois 45,5 mm $\pm$ 0,3) pour le même plan. Dans le plan transversal,on s'est mis pour le bregma à la graduation 79,9 $\pm$ 0,2 et pour le lambda à 80 $\pm$ 0,3.

Le plan d'électrolyse passait - 0,5 mm devant le bregma. Une électrode d'acier inoxydable bifilaire,vernie,dénudée à sa pointe sur 1 mm,dont chaque fil a un diamètre de 0,09 mm les deux extrémités étant séparées par 0,5 mm,maintenant écartées par un équarissoir fin de dentiste,est descendu dans le cerveau,après trépanation du crâne,faite au moyen d'une fraise très fine d'un diamètre de 0,2 mm.La profondeur,à laquelle la pointe de l'électrode est arrêtée est de 9,5 mm.Le trou de perforation est pratiqué à 0,5 mm de chaque côté de la ligne médiane.Une électrode est descendue à gauche,une autre à droite.

Le courant de destruction électrolytique est envoyé en bipolaire,à raison de 2 milliampères pendant 10 secondes dans un sens et 10 secondes dans l'autre (destructeur électrolytique RACIA).

Des localisations un peu moins antérieures,et des localisations un peu moins profondes furent faites à des fins de vérification.

Les animaux ont été anesthésiés à l'EQUI-THESIN,mélange d'hydrate de chloral (328 g) de pentobarbital (75g) et de sulfate de magnésium (164 g) en solution aqueuse,en présence de propylène-glycol et alcool (9,5%),des laboratoires JENSEN-SALSBERG (Kansas-City,Missouri) ou bien au NEMBUTAL.

Les lésions qui ont donné des résultats positifs sont comprises entre les planches 7,8 et 6,6 de l'atlas de DE GROOT (142).

L'HISTOLOGIE

Du point de vue histologique,le cerveau est perfusé avec une solution saline à 0,9% de formol tamponné,puis enrobé dans la paraffin ,après trois jours de fixation dans le formol tamponné.Les sections sont débitées à une épaisseur de 7 microns et colorées au crésylecht violet (planche I)

LA BIOCHIMIE

Les rats utilisés sont blancs,de souche Wistar,d'un poids moyen de 250 g.Ils ont été maintenus depuis le jour de l'opération à une température voisine de 26°.Ils ont reçu une alimentation synthétique standard supplémentée une fois par semaine en légumes frais.48 heures avant le sacrifice,soit le 50ème jour,une dose-traceur de 131 I (50 microcuries)leur est administrée par voie intra-péritonéale,sous forme de solution dans du ClNa à 0,9%.

La totalité du sang est prélevée sur héparine au moment de la mort,au niveau de l'artère rénale.Différents organes sont systématiquement pesés : thyroide,hypophyse,surrénales, testicules.Le poids de l'animal en expérience est également soigneusement noté.

Les thyroides sont mises à hydrolyser à pH 8,4 pendant 72 heures en présence de pancréatine (ARMOUR Chicago).

PLANCHE I

Electrolyse de la région suprachiasmatique,préoptique, paraventriculaire.Léaion bilatérale de la courbe 74 de DE GROOT.

FIGURE 1

La portion septale et ventriculaire supracommissurale n'est pas une portion électrolysée,mais simplement une défaillance tissulaire,provoquée par le passage de l'électrode,l'électrolyse,située au dessous de la commissure antérieure a gêné la fixation de la coupe histologique (7 microns)

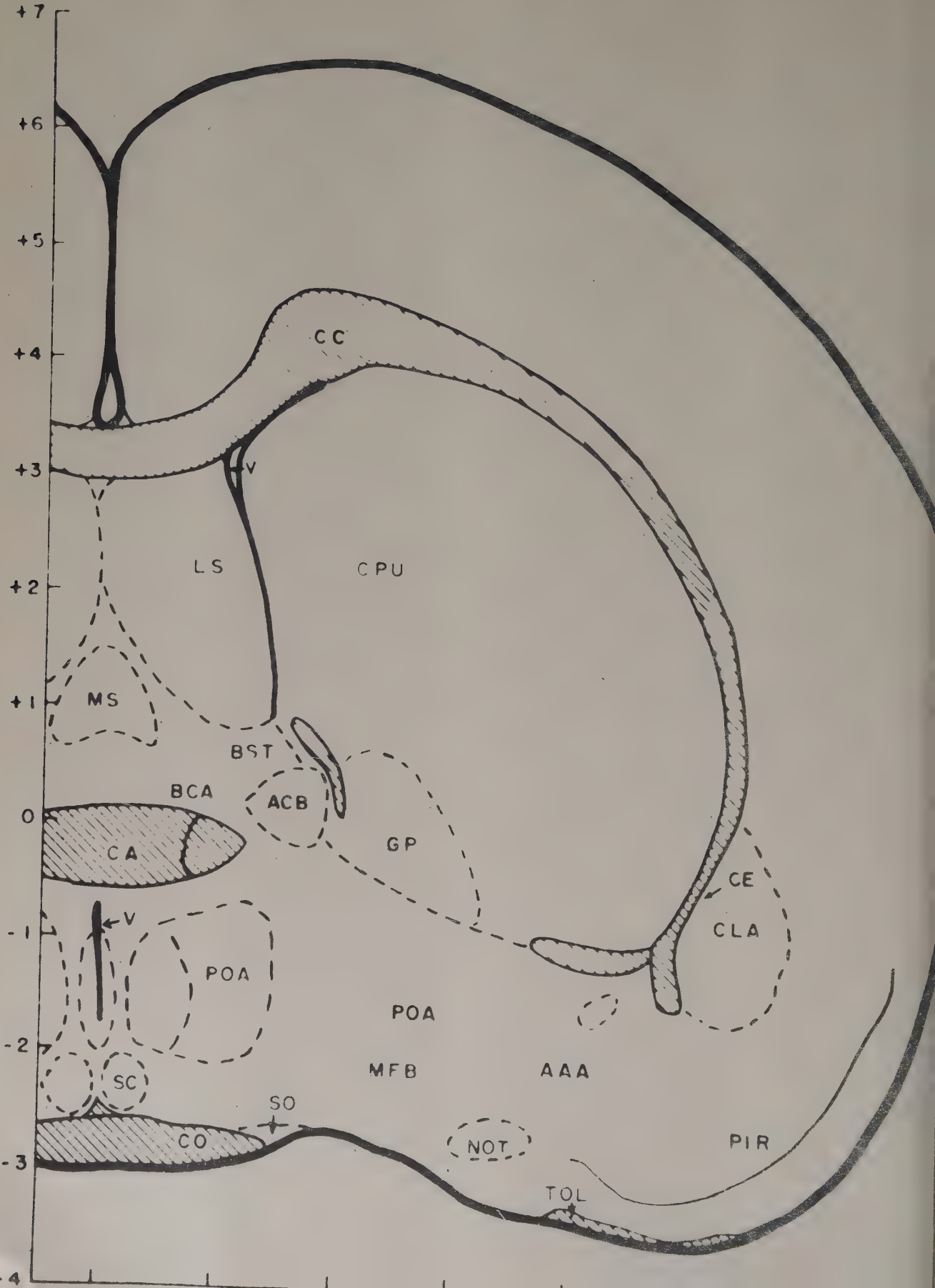
FIGURE 2

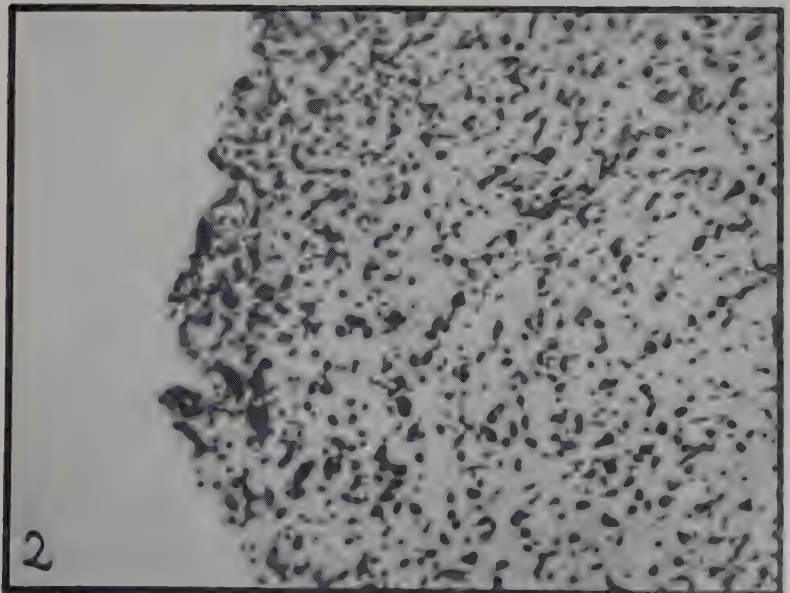
Un exemple de lésion histologique intracommissurale,provoquée par électrolyse est montrée au fort grossissement.

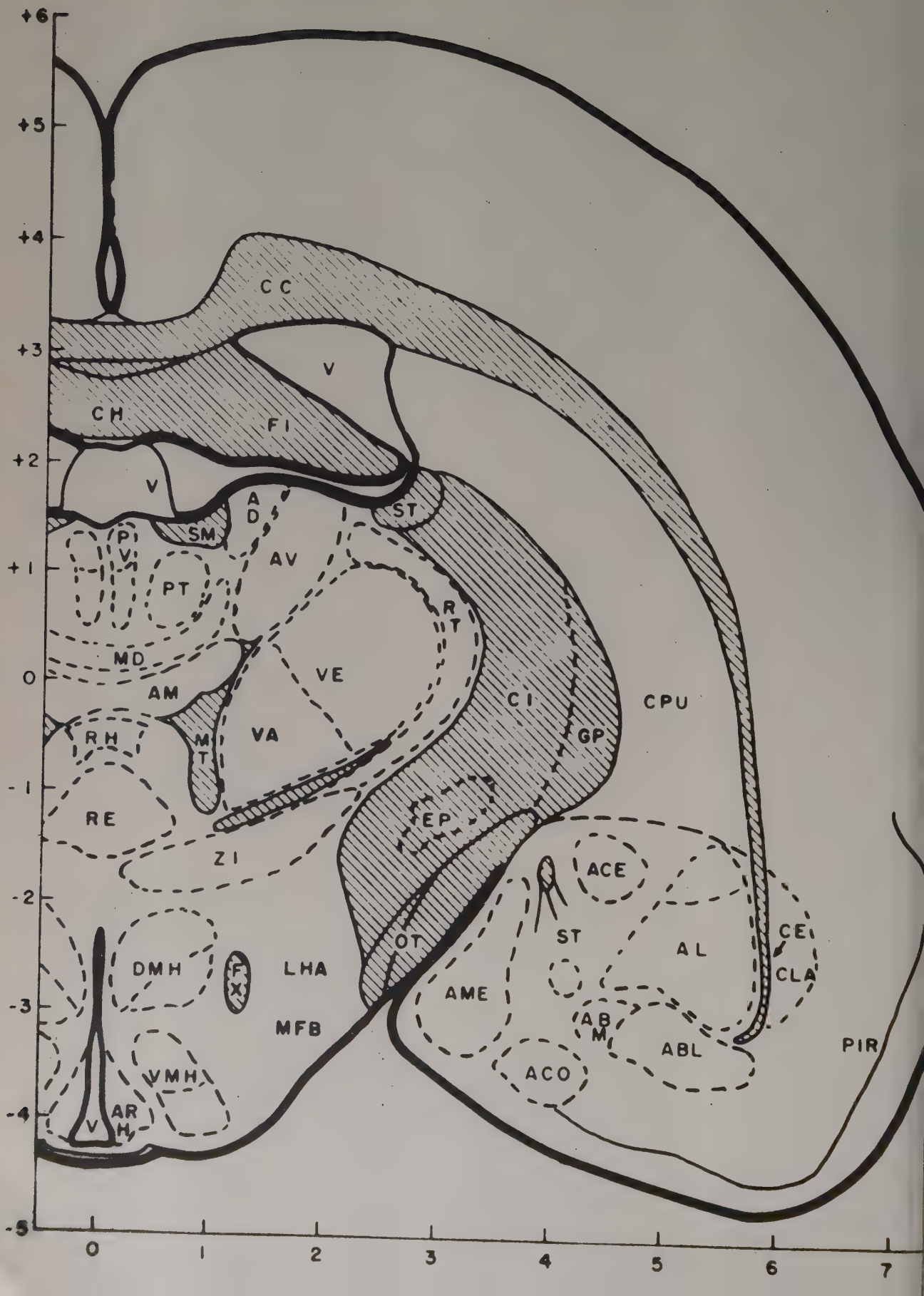
FIGURE 3

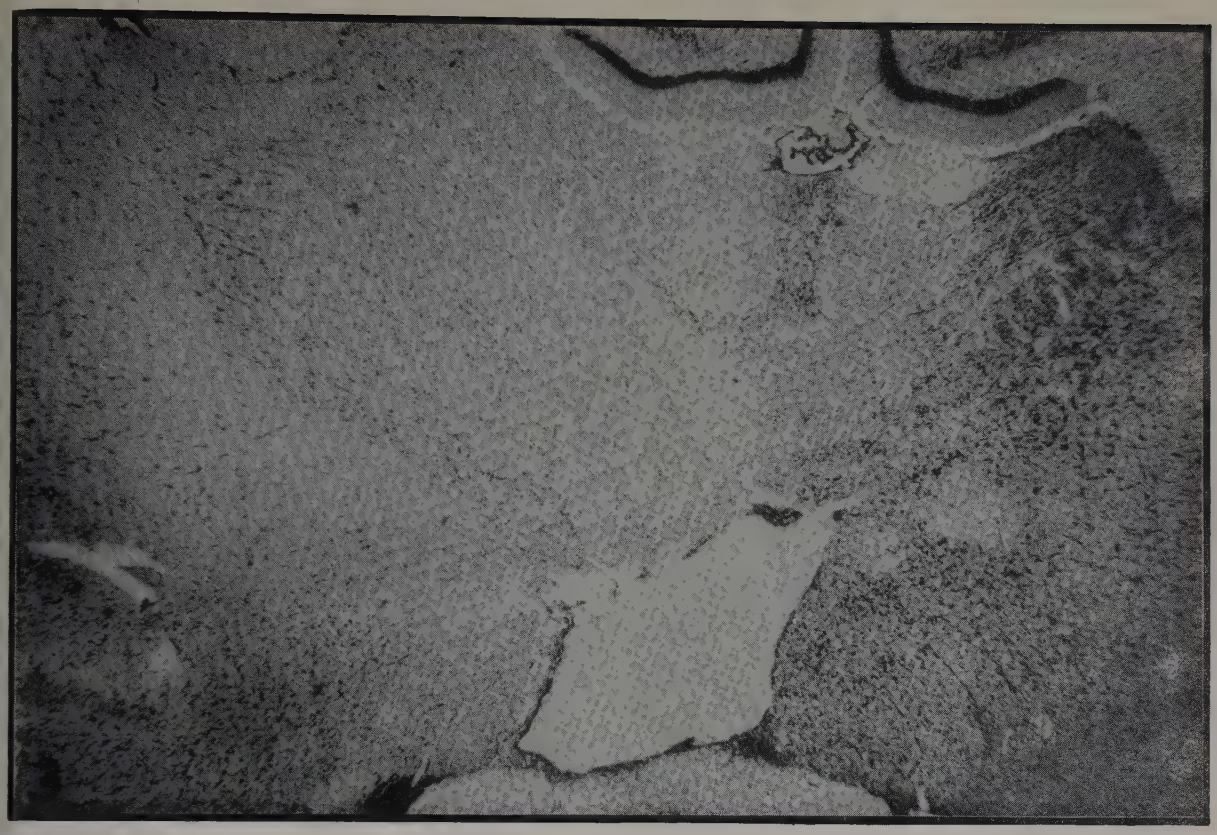
Prolongement de la lésion,qui est vue dans la partie postérieure.L'électrolyse intéresse,des 2 côtés,au-dessus de la tige, le noyau arqué,une portion du noyau ventromédian,le noyau dorso-médian s'étend latéralement jusqu'au fornix qui est même intéressé à droite.

Les schémas correspondants montrent les formations histologiques détruites car ils sont les transcriptions symboliques des coupes histologiques (Atlas de DE GROOT)


+7
+6
+5
+4
+3
+2
+1
0
-1
-2
-3
-4
CC
V
LS
CPU
MS
BST
BCA
ACB
CA
GP
CE
CLA
V
POA
POA
MFB
AAA
SC
SO
CO
NOT
PIR
TOL


2


+6
+5
+4
+3
+2
+1
0
-1
-2
-3
-4
-5
0
1
2
3
4
5
6
7
CC
V
CH
FI
V
ST
AD
SM
PV
AV
PT
RT
MD
VE
AM
CI
CPU
RH
MT
VA
GP
RE
EP
ZI
ACE
OT
ST
AL
CE
DMH
FX
LHA
CLA
AME
AB
M
MFB
ABL
PIR
VMH
ACO
V
ARH



Au bout de ce temps,la radioactivité totale de l'hydrolysat est déterminée par mesure en spectrométrie γ de trois échantillons de 1 ml.La fixation de ^{131}I est calculée en établissant le rapport : radioactivité de l'hydrolysat / radioactivité injectée.Il est bien entendu tenu compte de la décroissance de l'isotope.

Les iodures,et par différence,les acides aminés totaux (la somme iodures-acides aminés étant égale à 100),sont obtenus par passage de 1 ml d'hydrolysat sur une colonne de DOWEX 50 et élution de cette dernière par 15 ml d'eau distillée.La radioactivité de l'éluat correspond aux iodures.Le rapport radioactivité de l'éluat / radioactivité du millilitre d'hydrolysat permet d'en établir le pourcentage.

Les différentes substances iodées présentes dans la fraction organique sont dosées par passage sur une DOWEX IX2 (forme OH^-) et élution successive à l'acide acétique 6‰ (protéine iodée),2,5% (MIT),45% (DIT) et 80% (thyronines).

Enfin,après centrifugation,les plasmas sont traités,selon la technique décrite par BLANQUET et MEYNIEL (35) en 1960. Cette méthode consiste à faire traverser successivement deux colonnes,une supérieure de DOWEX 50,l'autre inférieure de DOWEX 1X2,par un ou deux millilitres de plasma.Les hormones sont retenues par la résine cationique,les iodures par l'anionique.Une élution du système par 15 ml de ClNa 0,9% permet de recueillir un éluat renfermant une fraction protéinique iodée non hormonale.

RESULTATS EXPERIMENTAUX

Nous avons tout d'abord effectué une série d'expériences d'orientation portant sur 25 rats dont 8 avaient subi une destruction unilatérale,17 des destructions bilatérales.Ces animaux furent sacrifiés à des temps variables après l'opération entre 3 jours et 2 mois.L'hypothalamus a été débité en coupes serriées et les localisations des lésions précisées.

Cette expérience préliminaire nous a renseigné sur la nature exacte des lésions qui devaient être pratiquées pour obtenir une réponse valable. Elle nous a montré que, d'une manière générale, ces lésions devaient être bi-latérales, et que par ailleurs on devait attendre un certain temps, après la destruction, pour entreprendre l'examen du métabolisme thyroidien. Nous avons fixé ce délai à 50 jours.

Grâce à ces précisions nous avons pu effectuer l'expérience définitive qui a porté sur 30 rats. En ce qui concerne la présentation des résultats, il est bien évident que l'on ne peut pas ici recourir aux moyennes portant sur 10 ou 15 animaux puisque chaque rat, possédant une lésion qui lui est propre, se trouve être un cas particulier.

De plus, nous avons examiné le métabolisme thyroidien de ces animaux sans nous préoccuper, au départ, du siège de la lésion. Nous avons adopté, comme critère de l'efficacité d'une lésion, soit la réduction du stockage de ^{131}I par la thyroide, au 1/3 de sa valeur, comparativement aux témoins, soit une concentration hormonale plasmatique présentant le 1/3 des valeurs normales, chez des animaux aux mêmes stades, soit enfin les deux paramètres à la fois.

Ce n'est qu'ensuite que nous avons fait le contrôle histologique et que nous avons juxtaposé, pour établir nos conclusions, les deux types de renseignements obtenus : histologique et biochimique.

Un résumé de nos résultats a été donné par le Tableau II, qui comporte pour chaque animal, la fixation d'iode 131 par la glande thyroide, le pourcentage d'acides aminés intrathyroidiens le pourcentage de thyronines ($T_3 + T_4$) intrathyroidiennes, et la concentration en hormones circulantes exprimée en pourcentage et en coups/minute/millilitre de plasma. Enfin, dans la dernière colonne, nous avons indiqué la localisation exacte de la destruction pratiquée.

Durée d'action de l'iode - 48 h	THYROÏDE			PLASMA		Localisation de la lésion
	Fixation %	Ac. Aminés % par rapport dose fixée	Hormones T_3+T_4 % par rapport dose fixée	Fraction hormonale Dowes 50 %	Fraction hormonale Dowes 50 cps/mn/ml	
TÉMOINS moyenne 20 animaux	12,0	92,0	14,0	40,0	3500	
Lésions non efficaces	9,75	90,7	10,3	28,5	1710	médiane suprachiasmatique
	8,50	95,5	11,4	27,5	1715	debut noyau ventro-médian
	8,25	90,7	9,0	32,3	1445	base antérieure - noyau suprachiasmatique
	11,3	94,0	17,0	29,5	3150	noyau ventromédian
	9,1	85,2	14,1	40,1	5080	noyau paraventriculaire
	9,45	91,3	6,4	30,3	1500	trop postérieure
Lésions efficaces	1,8	92,5	10,2	22,0	920	destruction étalée dans le sens antéropostérieur du plan au plan de Groot
	4,0	91,1	9,3	32,0	730	supraoptique - préoptique suprachiasmatique et paraventriculaire
	4,3	92,9	12,8	38,4	960	noyau ventromédian de l'hypothalamus
	1,1	90,0	7,2	40,6	670	noyau arqué - noyau ventro médian
	2,4	94,5	5,5	32,8	525	en arrière de la commissure antérieure - système periventriculaire - noyau suprachiasmatique
	2,3	78,9	5,2	22,9	800	
	3,4	92,0	6,4	39,2	515	

Etude du Métabolisme Thyroïdien chez les Rats porteurs de lésions hypothalamiques

TABLEAU II

Comme on le verra,ce tableau comporte deux parties,la première,pour laquelle les lésions se sont révélées inefficaces et la seconde où elles se sont révélées actives.

Toutes ces lésions ne nous ont pas permis de constater une diminution statistiquement significative du poids des glandes thyroides et c'est la raison pour laquelle,nous n'avons pas collationné ces poids dans notre tableau.

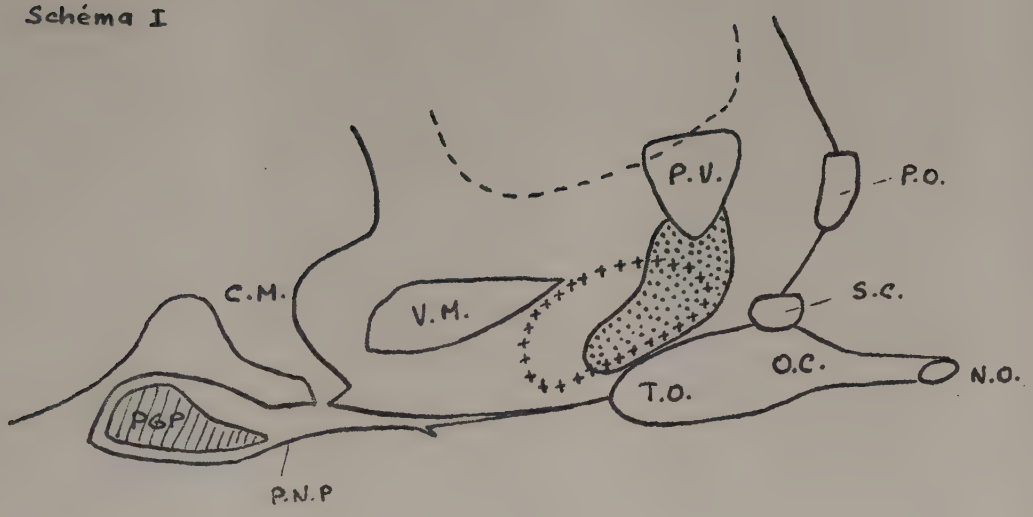
Les conclusions que l'on peut tirer de cette expérimentation sont résumées par le schéma I qui montre la localisation des lésions effectives.En pointillé,nous avons mentionné l'aire dans laquelle la stéréotaxie de nos premières expériences avaient été faites,et en trait plein,celle correspondant aux expériences rapportées dans le tableau précédent.

Pour être effective,suivant les critères que nous avons définis,la lésion doit être très inférieure,et localisée à une région qui part de l'aire préoptique à droite,dont le contour est tangent au noyau suprachiasmatique,qui affleure en haut le noyau paraventriculaire,et qui se trouve toujours à distance du noyau ventromédian.

Les expériences concordent entièrement avec celles de GREER et Coll.(130-134) puisque l'on trouve une aire qui est à peu près celle de la TSH de GREER.Mais GREER s'appuyait surtout sur des critériums morphologiques,puisqu'il constatait que des lésions de cette aire inhibait l'action du PTU.Nous apportons donc par des critériums biologiques précis,et,en particulier,grâce à la détermination de la concentration hormonale plasmatique,une confirmation aux remarquables recherches de cet auteur.

A notre point de vue,ces expériences ont une très grande importance,puisque c'est grâce à elles qu'on a découvert le contrôle hypothalamique de la thyroide;elles nous semblent irréfutables étant donné les critériums précis choisis.Mais on peut toujours alléguer que ces lésions ne sont pas ponctuelles,qu'elles peuvent être extensives,qu'à leur niveau,peut

Schéma I



Hypothalamus du RAT

++++ = Zone détruite lors des experiences préliminaires

▨ = destructions nouvelles plus efficaces
toutes se trouvent dans l'aire hypothalamique antérieure

VM = Noyau ventromédian de l'hypothalamus
PV = Noyau paraventriculaire
PO = Aire préoptique
SC = Noyau suprachiasmatique
CM = Corps mamillaire
TO = Tractus optique
OC = Optique chiasma
NO = Nerf optique
PNP = pars nervosa de la Pituitaire
▨ PGP = pars glandularis de la pituitaire

s'ériger du tissu cicatriciel et qu'en conséquence,elles ne constituent pas une preuve absolue.

C'est pourquoi pour obtenir cette preuve,nous nous sommes orientés vers des expériences de greffes qui permettent de couper toutes les communications hypothalamo-hypophysaires et qui ne sont plus soumises à aucune sorte de discussion ou de critique.Ces expériences sont relatées dans le chapitre suivant .

CHAPITRE IV

L'HYPOPHYSECTOMIE ET LES GREFFES

Le contrôle hypothalamique de la thyroide est maintenant pratiquement une certitude.Les premières expériences que nous avons relatées dans le chapitre I en sont une preuve.Mais il fallait reconnaître que des expériences irréfutables de ce fait manquaient encore.On avait bien montré que,par lésion d'une certaine aire de l'hypothalamus antérieur,il y avait suppression de l'hypertrophie provoquée par le propylthiouracile,qu'il existait donc un retentissement très net de l'hypothalamus sur le métabolisme thyroidien.Mais on pouvait toujours alléguer que ces lésions avaient été mal placées ou qu'il y avait eu formation de tissu cicatriciel autour d'elles.L'expérience de démonstration idéale consistait donc à couper la communication entre l'hypothalamus antérieur et l'hypophyse.

Comme nous l'avons vu au premier chapitre de ce travail, les premières expériences,dans de sens,furent faites par : HARRIS & Coll.(158-159-160),qui sectionnaient simplement la tige hypophysaire.Ils se rendirent rapidement compte que, s'ils laissaient les deux fragments en contact,il se produisait très rapidement une régénération des vaisseaux et ,dans ces conditions,l'opération pardait ses effets endocriniens. Ils eurent alors l'idée d'interposer,entre les deux fragments, une feuille de plastique qui,par sa présence,empêchait la régénération des vaisseaux.Pratiquant une étude sommaire du fonctionnement thyroidien par des méthodes exclusivement externes,ils montrèrent que la sécrétion d'hormones était moins importante chez les animaux dont la tige avait été sectionnée,et qui étaient porteurs d'une plaque,que chez les témoins.D'après ces auteurs,la sécrétion d'hormones par la

thyroide était proportionnelle à la pente de la courbe d'activité thyroidienne après la 72ème heure.C'était là une assertion quelque peu discutable,et pour notre part,nous avons pensé que seule l'étude biochimique complète,de la thyroide et du sang,permettrait d'avoir une opinion précise sur l'aptitude sécrétoire de la glande thyroide.

Durant son séjour à l'Université de BERKELEY,P.BLANQUET (non publié) a eu l'occasion d'examiner le métabolisme thyroidien d'animaux dont la tige avait été sectionnée et qui étaient porteurs d'une plaque isolante.Il a pu ainsi constater que leur métabolisme thyroidien était intermédiaire entre celui des animaux hypophysectomisés et celui des animaux normaux.

Ce type d'expériences,quoique fort démonstratif,était encore discutable pour des raisons de contiguité.Les 2 fragments restant voisins,il pouvait y avoir passage,soit par le système porte-hypophysaire,soit par la circulation générale d'une substance,à activité TRF par exemple,agissant sur l'hypophyse elle-même.Dès lors,pour nous,l'expérience type consistait à opérer,chez le même animal,une section définitive des communications hypothalamo-hypophysaires et à mettre le maximum de distance entre les deux fragments.

Cette expérience,nous avons pu la réaliser grâce à la technique mise au point par le Professeur Agrégé MEUNIER.

TECHNIQUE EXPERIMENTALE

Les expériences rapportées ont été effectuées chez le Rat Albinos,souche Wistar,mâle ou femelle.Les animaux utilisés ont été soumis à un régime standard artificiel,supplémenté une fois par semaine en légumes frais.Ces rats sont maintenus à une température moyenne de 26°.Ils sont soumis à un éclairement artificiel de 12 heures.Dans ces conditions expérimentales,il semble que les variations cycliques qui concernent,chez la femelle,l'activité ovarienne et qui se répercutent,par l'intermédiaire de l'hypophyse sur tous les éléments du système endocrinien,soient éliminées.

(SAWYER & EVERETT) (279) ,(BENOIT)(28) .Les animaux ainsi préparés sont utilisés lorsqu'ils atteignent un poids de 160g.

- HYPOPHYSECTOMIE : Les rats mâles ou femelles sont opérés suivant une technique voisine de celle de SMITH (1927) L'anesthésie est obtenue par une injection intra-péritonéale d'Avertine.L'anesthésique,en solution aqueuse au 1/40° ou en solution à la même concentration dans le sérum physiologique est injecté à la dose de 1 ml pour 100 g de rat.

L'incision cervicale médiane est effectuée de l'extrémité supérieure du sternum jusqu'à la symphyse mentonnière.Les glandes salivaires sont clivées sur la ligne médiane et réclinées sur les faces latérales du cou.Les muscles prétrachéaux,incisés, également sur la ligne médiane,permettent de découvrir la région thyroidienne.On repère le pédicule thyroidien inférieur gauche,et une pince courbe permet de cliver les muscles latéro-trachéaux;on aboutit,en passant en dedans du nerf récurrent et du pneumogastrique à la base du crâne,au niveau des insertions sphénoidales des muscles de la loge cervicale postérieure.Ces muscles sont désinserrés,et on découvre de la sorte la base du crâne dans une région cintrée par la suture occipito-sphénoidale qui apparait transversale dans le champ opératoire.De cette suture transversale,part une crête verticale et postérieure qui correspond à l'union des deux moitiés de l'occiput.La trépanation est effectuée sur la ligne médiane, légèrement en avant de la suture occipito-sphénoidale.L'incision de la dure-mère ,qui doit être intacte au terme de la trépanation,permet de découvrir la glande pituitaire dont l'ablation est effectuée par aspiration à l'aide d'une pipette.L'orifice de trépanation est ensuite obturé de façon partielle au moyen d'un fragment de gélatine formolée imprégnée d'antibiotiques et l'incision cervicale refermée en deux plans.

Les animaux sont soumis au traitement post-opératoire suivant : une injection intramusculaire d'acétate de cortisone (2,5 mg) et une injection sous-cutanée de solution isotonique de glucose (4 ml).

GREFFE DE L'HYPOPHYSE.

Les animaux sont opérés dans les mêmes conditions générales cependant les femelles subissent avant l'opération (hypophysectomie et greffe) un frottis vaginal quotidien.Les animaux dont les cycles sont réguliers et caractéristiques sont seuls utilisés et opérés au jour du 3ème oestrus constaté. Chez les mâles comme chez les femelles,l'hypophyse est aspirée à la pipette;les fragments de pituitaire sont lavés pendant quelques minutes dans une solution isotonique maintenue à la température du laboratoire.Pendant ce temps,une incision dorso-colatérale permet de découvrir,puis d'extérioriser le rein.La capsule du rein gauche est incisée au pôle supérieur ventral.Elle est décollée et les fragments d'hypophyse lavés sont placés au pôle inférieur,en dessous de l'artère capsulaire antérieure.On place,dans la loge rénale une petite quantité d'antibiotiques.Les incisions musculaires et cutanées sont, ensuite, refermées en deux plans.

Le même traitement post-opératoire : acétate de cortisone et solution isotonique de glucose est instauré chez ces animaux.

Deux groupes principaux d'animaux femelles ont été utilisés :

- ceux du premier groupe ont été simplement hypophysectomisés,à un moment quelconque ou le jour de l'oestrus.
- ceux du second groupe ont subi une hypophysectomie dans les mêmes conditions;mais les fragments d'hypophyse prélevés ont permis de réaliser une autogreffe rénale.Chez les femelles, l'hypophysectomie et l'autogreffe ont été pratiquées uniquement au moment de l'oestrus.Différents travaux,notamment ceux de DESCLIN (94),HARRIS & Coll. (157-158) MEUNIER (232),ont,en effet,permis d'établir que l'autogreffe d'hypophyse provoque chez les animaux qui la subissent l'établissement et le maintien d'un équilibre hormonal complexe.C'est pourquoi,les greffes ont été effectuées au même moment du cycle ovarien,de manière que l'équilibre obtenu soit,autant que possible,le même chez tous les animaux femelles.

Les animaux hypophysectomisés ont constitué ,pour chaque série expérimentale utilisée,des lots de références pour apprécier les différents états fonctionnels des glandes endocrines de l'organisme et,tout particulièrement,de la glande thyroide.

Les animaux hypophysectomisés et porteurs d'autogreffe pituitaire sous la capsule rénale ont été divisés en un certain nombre de groupes expérimentaux:

- une première série est maintenue dans les mêmes conditions de température,d'éclairement et d'alimentation,pendant un temps variable : 2,4,7 ou 9 semaines;ceci pour essayer de déterminer à quel moment le greffon devient fonctionnel.
- une seconde série expérimentale est divisée en plusieurs lots,qui sont soumis,dès le jour de la greffe,à l'un des traitements hormonaux suivants :

- une injection quotidienne de benzoate d'oestradiol,à raison de 25 unités interbationales par jour,pendant 2,4 ou 9 semaines.
- une injection quotidienne de thyroxine,à raison de 1/100 de mg,par jour pendant 9 semaines.
- une injection quotidienne d'ocytocine synthétique Sandoz (produit expérimental hautement purifié),à raison de 1 unité par jour pendant 9 semaines.

Tout au long de ces différentes expériences,le poids des rats est soigneusement contrôlé,et notamment au point 0,et au moment du sacrifice.A cette date,les glandes endocrines sont prélevées,pesées,et examinées du point de vue histologique.

Les rats recoivent une dose traceuse de ^{131}I (50 μ c), par voie intrapéritonéale,24 heures avant d'être sacrifiés.

Pour chacun des lots d'animaux,nous avons déterminé la fixation d'iode 131,par la thyroide,le pourcentage d'iode organique intrathyroidien (acides aminés totaux),ainsi que les concentrations relatives de chacun des acides aminés présents dans la glande;enfin dans le plasma,les pourcentages

PLANCHE II

FIGURE I : Gx220

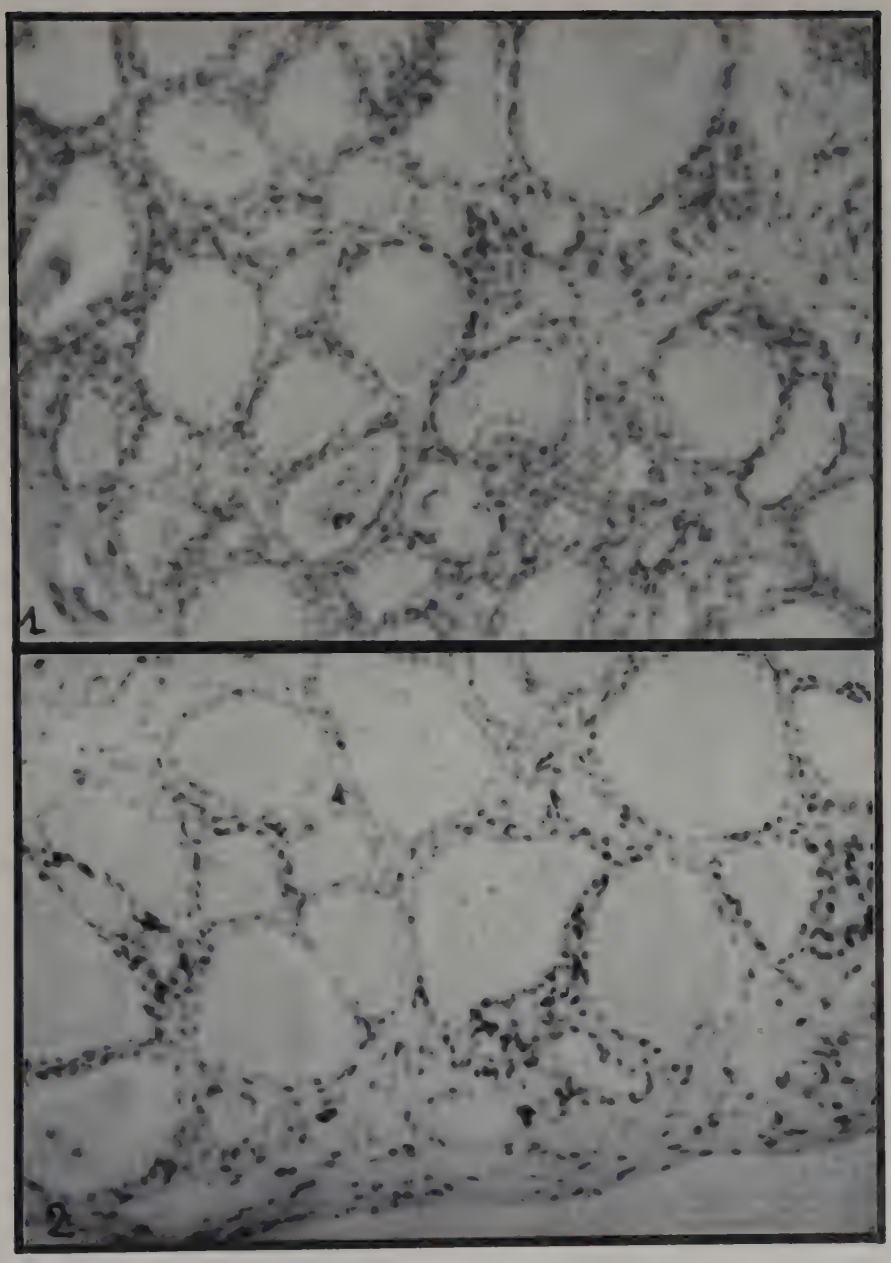
Aspect d'une section de glande thyroide chez un animal témoin.

Vesicules de taille moyenne à paroi formées de cellules hautes.

Amas cellulaires intervésiculaires.

FIGURE II : Gx220

Animal hypophysectomisé depuis 4 semaines : la glande thyroide est formée de grandes vésicules dont la paroi est constituée d'une assise de cellules basses, parfois d'aspect endothéliforme.


1
2

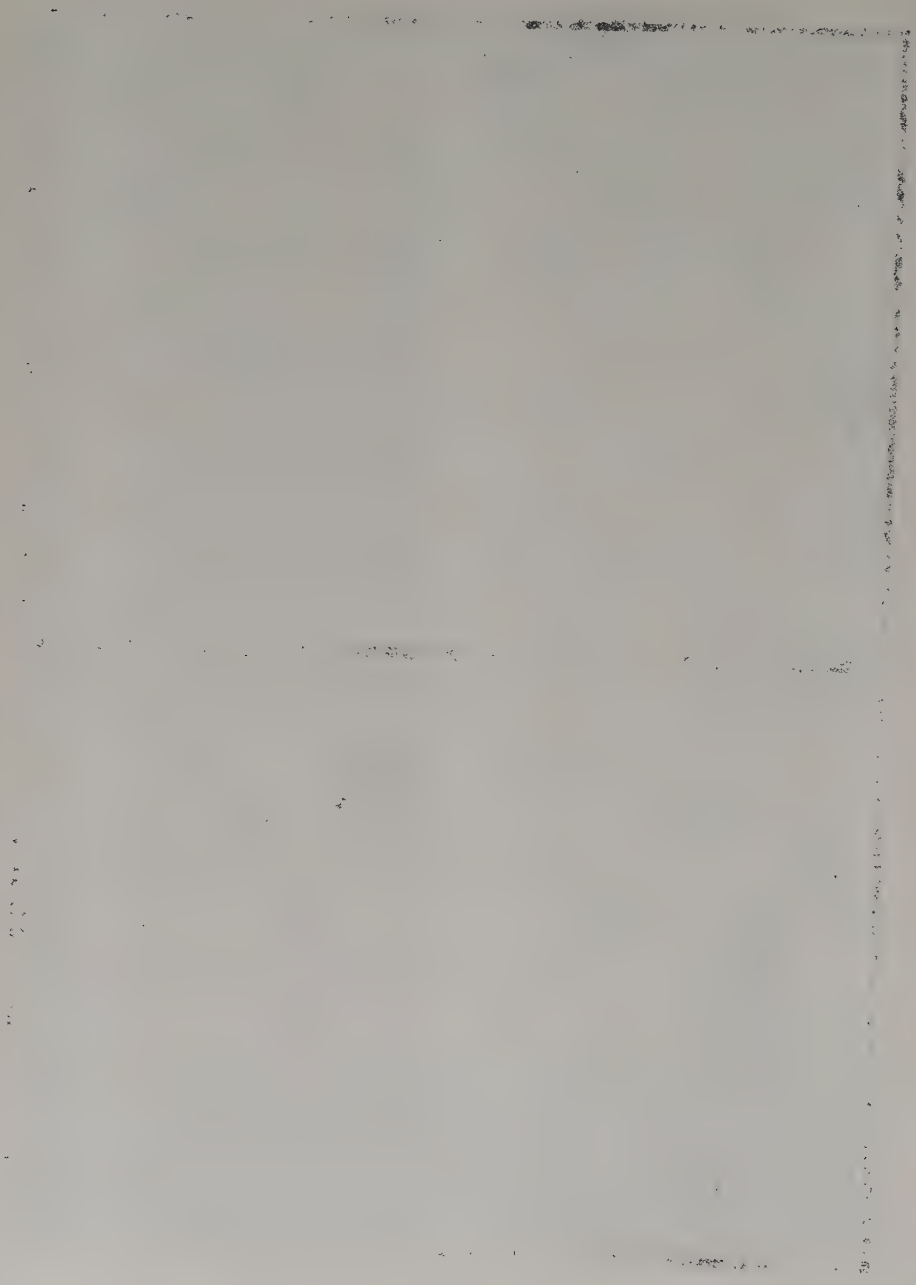


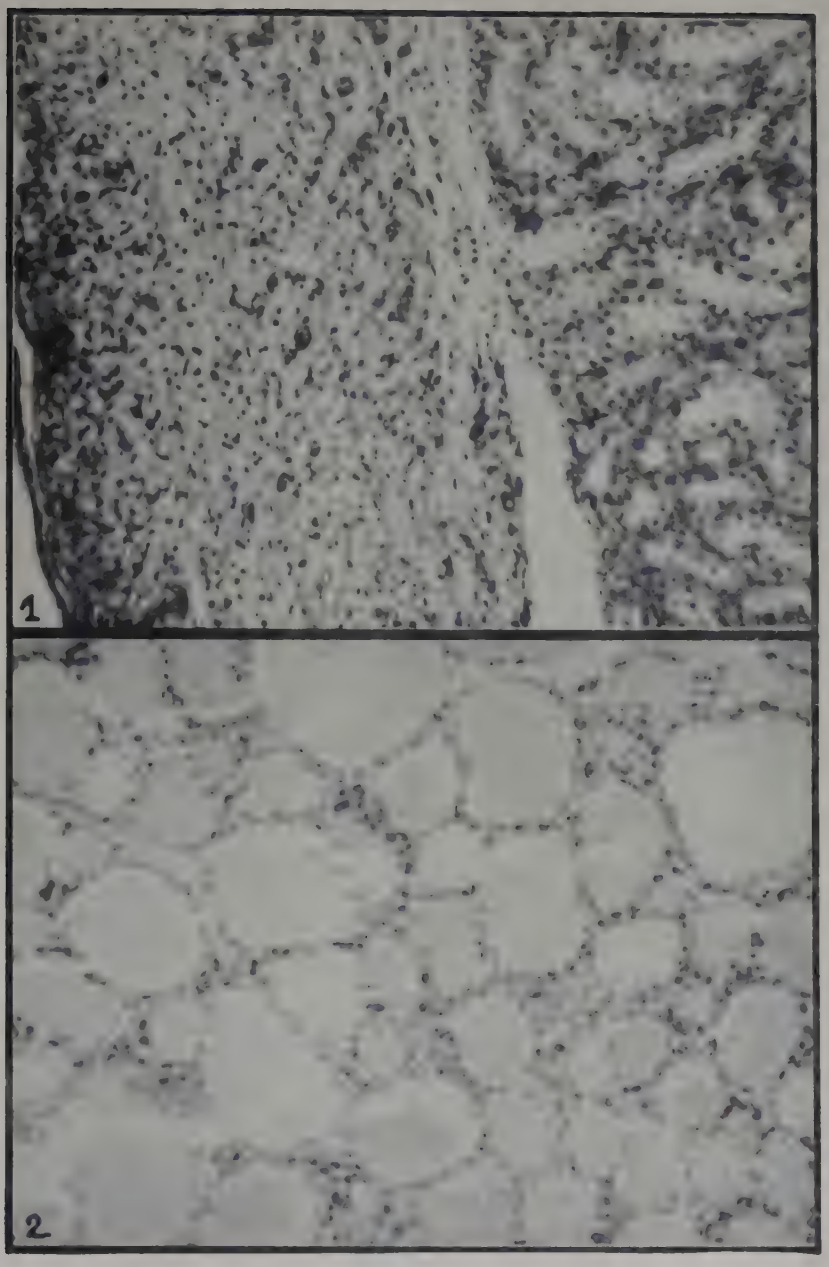
PLANCHE III

FIGURE I : Gx190

Autogreffe d'hypophyse :
Rat femelle de 100g ayant subi le jour de l'oestrus l'hypophysectomie : les fragments de glandes pituitaires sont greffés sous la capsule du rein gauche.
Aspect monomorphe du greffon 7 semaines après l'opération.
A droite sur le cliché,le parenchyme rénal.

FIGURE II :Gx220

Thyroide du même animal :
Au terme de l'expérience,la glande thyroide est constituée de vésicules de taille moyenne,la paroi de ces vésicules est formée de cellules cubiques.L'image est très voisine de celle que l'on obtient chez les animaux témoins.Les critères morphologiques sont insuffisants pour apprécier chez le rat l'activité de la glande thyroide.


1
2

relatifs d'iodure et d'hormones.Nous avons également calculé la radioactivité hormonale en coups/minute/millilitre de plasma,pour permettre une comparaison facile.Ces déterminations fournissent un bilan thyroidien assez complet.

RESULTATS EXPERIMENTAUX :

Dans la première série d'expériences,ces déterminations ont été exécutées comparativement et systématiquement pour 3 groupes d 'animaux soumis au même régime alimentaire et classés dans les mêmes conditions expérimentales :témoins normaux,rats hypophysectomisés,rats hypophysectomisés greffés au niveau de la capsule rénale.(Durée de l'expérience ; 2,4, 7 ou 9 semaines).

Les rats hypophysectomisés perdent du poids dans les jours qui suivent l'opération,environ 30% de peur poids initial et ils ne le récupèrent point.Les rats porteurs de greffes perdent environ 20% de leur poids,différence qu'ils récupèrent dans les semaines suivantes sans jamais toutefois dépasser le poids du moment de l'intervention.

Les rats porteurs de greffe pituitaire présentent des cortico-surrénales,des ovaires et une thyroide,d'aspect et de poids intermédiaires entre ceux des animaux hypophysectomisés et ceux des témoins.

L'examen histologique des thyroides montre que,chez les animaux porteurs de greffes,les images thyroidiennes,sont assez voisines de celles des animaux témoins.L'épithélium thyroidien est d'autant plus haut que le greffon pituitaire apparait cytologiquement plus actif.Il est possible de constater l'existence de vacuoles de résorption chez les animaux qui ont subi l'opération depuis 7 semaines au moins.Chez les rats hypophysectomisés,ayant un greffon de quelques jours ou porteurs de greffes qui ont mal pris,c'est-à-dire réduites ou infiltrées de cellules conjonctives,la glande thyroide apparait comme constituée de grandes vésicules à parois minces, formées d'éléments aplatis. (planches I & II).

Les résultats,en ce qui concerne l'activité endocrine des gonades,et plus particulièrement des ovaires chez les rats femelles porteurs de greffe concordent avec les faits rapportés par MEUNIER dans sa thèse (232).On constate l'existence d'un état hormonal caractérisé par la présence,dans l'économie générale,d'un taux élevé de prolactine (identifiable chez la ratte à l'hormone lutéotrope) qui provoque au niveau des ovaires,la suspension du cycle oestral,le maintien d'un corps jaune volumineux et cytologiquement actif;par contre,l'appareil folliculaire est quiescent.On a un équilibre hormonal voisin de celui de la lactation : épithélium vaginal bistratifié à couche superficielle prismatique;parenchyme mammaire constitué quelque soit la durée de l'expérience d'acini clairsemés,manifestant une activité sécrétoire. L'aspect du greffon hypophysaire est monomorphe chez les animaux porteurs d'autogreffe.Il est constitué de grandes cellules à cytoplasme abondant et granulaire.La mise en évidence de l'ergastoplasme est négative.

Nous examinerons spécialement le métabolisme des rats porteurs de greffe de 7 semaines.L'étude comparative,chez ces animaux,figure dans le tableau III.La fixation des animaux greffés n'est pas négligeable et est intermédiaire entre le chiffre extrêmement bas à 24 heures des hypophysectomisés (0,25 %) et celui du lot témoin (14,5%).

L'étude des thyroides met en évidence que cette glande manifeste chez les hypophysectomisés,un fonctionnement autonome,qui lui permet de synthétiser de très petites quantités d'hormones,cependant détectables et dosables.Les animaux greffés sont capables de synthétiser des quantités appréciables de thyroxine ; les témoins présentent une quantité substantielle d'hormones.Mais,il est intéressant de connaître pour apprécier de façon précise le fonctionnement de la glande la quantité d'hormones ou de précurseurs exprimée en coups/minute pour la quantité totale de la glande.Les quantités injectées et les conditions de comptage ont toujours été identiques.Il suffit,donc,pour cela de multiplier l'activité totale

	THYROÏDE			SANG		
Moyenne de 10 animaux	Fixation ^{131}I en %	Acides Aminés totaux en % par rapport	Thyronines $T_3 + T_4$ en % à la dose fixée	Activité 1 ul Plasma	Fraction Hormonale Dowex 50 en %	Fraction Hormonale Dowex 50 en cps-ml/mn
TEMOINS 1e série	13,0	94,5	14,5	44000	11,4	5000
2e série	15,1	97,2	19,2	52000	8,0	4100
3e série	14,0	95,8	12,8	35000	12,3	4300
HYPOPHYSECTOMISÉS 1e	0,22	96,9	3,2	125000	0,2	250
2e	0,26	97,7	5,2	150000	0,2	300
3e	0,30	97,4	4,5	115000	0,3	350
HYPOPHYSECTOMISÉS GREFFÉS 1e	2,8	93,2	4,7	140000	1,6	2000
2e	2,9	94,8	4,5	115000	2,2	2500
3e	2,6	95,0	5,0	120000	1,9	2200

METABOLISME THYROÏDIEN à 24 heures - RATS FEMELLES

TABLEAU III

injectée par la fixation.On obtient ainsi la radioactivité totale de la glande.On détermine de la même manière les acides aminés totaux,les iodures,etc...Ce calcul aisé à pratiquer nous a montré qu'en prenant pour référence la quantité d'hormone présente dans la glande d'un hypophysectomisé on en trouve dix fois plus chez l'animal hypophysectomisé greffé et 500 fois plus chez le rat femelle normal.

L'étude du sang et,en particulier,la considération de la quantité d'hormones,exprimée en pourcentage met bien en évidence la différence entre les trois groupes d'animaux : forte quantité de thyroxine circulante chez les témoins, faible chez les greffés et les hypophysectomisés.Mais,on peut se faire une idée plus précise en procédant comme suit : pour chaque animal,nous avons déterminé la radioactivité de 1 ml de plasma.Ce chiffre multiplié par le pourcentage d'hormones,nous donne le nombre de coups/minute/ml,correspondant à T_4.Bien sûr,ces considérations ne sont qu'approchées,car il faut supposer que la radioactivité spécifique de la thyroxine est toujours la même,et que la masse sanguine des animaux est du même ordre de grandeur.Ceci n'est pas vrai pour les animaux hypophysectomisés ,et vraisemblablement pour les greffés qui ont une masse sanguine inférieure à celle des normaux,mais cette différence joue dans le bon sens et,par conséquent,n'a pas une importance considérable.

Donc,si on admet ces propositions,on voit que l'hormone circulante correspond à 4000 coups environ/minute/ml chez le témoin;chez le rat hypophysectomisé 300,chez celui porteur d'une greffe 2000.En d'autres termes,il circule beaucoup d'hormones chez le témoin,très peu chez l'animal hypophysectomisé,une quantité intermédiaire,mais aisément appréciable chez les animaux greffés.Si l'on prend comme base l'hypophysectomisé,il circule 6 à 7 fois plus d'hormone chez l'animal hypophysectomisé greffé et 13 à 14 fois plus chez le témoin.

L'autogreffe pituitaire à distance de ses connections hypothalamiques apparait comme une méthode permettant de préciser les rapports fonctionnels entre les noyaux diencéphaliques

et l'antehypophyse.Lorsque l'influence de l'hypothalamus antérieur n'existe plus,les fixations thyroidiennes sont intermédiaires entre le niveau normal et le niveau hypophysectomisé,il en est de même des quantités d'hormones intra-thyroidiennes et circulantes.

L'étude histologique des greffons suggère qu'ils sont capables de manifester une activité thyréotrope certaine. Une étude préliminaire nous avait permis de sélectionner les greffes au niveau de la capsule du rein.En effet,leur activité thyréotrope est plus élevée,semble-t-il que les greffes sous-cutanées auriculaires.

Nous n'avons envisagé,jusqu'ici,que les résultats d'une telle opération chez le rat femelle.Mais il faut dire que nous en avons également pratiqué chez le mâle.Cependant ,dans ce cas,les résultats sont moins bons que chez les femelles. Bien que les greffes prennent de façon correcte,le métabolisme thyroidien reste à un stade à peine supérieur de celui des animaux simplement hypophysectomisés et les résultats obtenus ne sont guère exploitables.

Enfin,comme nous l'avions indiqué au début de cette expérience,nous avions fait différents lots : greffe de 2 ,4 ,7 et 9 semaines.Nous n'avons parlé dans nos résultats que du lot de 7 semaines,car à 2 semaines les greffon pituitaire n'est pas suffisamment pris pour fonctionner normalement, le métabolisme thyroidien est encore très voisin de celui des hypophysectomisés.A 4 semaines,on assiste à un début de démarrage de ce greffon ce qui se traduit par une légère stimulation de la glande thyroide.On arrive à un état d'équilibre du greffon au 50ème jour environ,soit au bout de 7 semaines et on ne gagne rien au terme de 9 semaines,les résultats sont identiques du point de vue histologique et biochimique.

C'est pour cette raison que nous avons utilisé,dans la seconde série d'expériences,des rats femelles porteurs de greffe au niveau de la capsule rénale depuis au moins 50 jours. Au terme de l'expérience,ils reçoivent comme les précédents une injection intrapéritonéale d'iode 131 (50 µc) et ils

sont uniformément sacrifiés 24 heures après cette injection de traceur.Les mêmes prélèvements et une étude identique du métabolisme thyroidien ont été pratiqués sur ces rats.

Dans cette seconde série d'expériences,nous avons cherché à connaitre quel pouvait être le retentissement chez l'animal hypophysectomisé greffé de 3 substances,une à action sur les gonades : l'oestradiol,l'autre à action thyroidienne : la thyroxine,une dernière à activité hypothalamique pense-t-on : l'ocytocine.

L'injection d'oestrogène modifie l'équilibre hormonal obtenu,les corps jaunes persistent,mais l'apport d'oestradiol stimule les récepteurs vaginaux et mammaires,qui prennent un aspect variable selon les animaux.

Dans la majorité des cas,l'épithélium de la muqueuse vaginale est polystratifié et prismatique.Des cellules très hautes et mucipares enserrent de nombreuses et volumineuses " boules muqueuses" qui donnent aux préparations un aspect voisin de celui que l'on observe chez des animaux gravides et soumis à des injections d'oestradiol.Chez d'autres rats femelles, l'excès d'oestrogènes est trop considérable et on assiste à une stimulation de l'assise génératrice,qui prolifère et repousse dans la lumière des éléments mucipares en voie d'élimination; quelque soit l'aspect de la muqueuse vaginale,le parenchyme mammaire est développé de façon appréciable;il est constitué d'amas denses d'acini fermés sans activité sécrétoire.

L'injection de thyroxine et l'injection d'ocytocine ne semblent pas,d'après les préparations examinées modifier l'activité de l'ovaire chez le rat femelle porteur d'autogreffe pituitaire.Les effecteurs vaginaux et mammaires ont un aspect voisin de celui qu'ils ont chez les animaux greffés non soumis à un traitement hormonal.

Les critères morphologiques sont cependant insuffisants pour apprécier l'état fonctionnel de la thyroide.Le parenchyme thyroidien est toujours constitué de vésicules de taille importante,bordées d'un épithélium de faible hauteur,Cet épithélium présente encore un aspect intermédiaire entre celui des vésicules à paroi endothéliforme tel qu'on en rencontre chez

les rats hypophysectomisés et l'épithélium de l'animal témoin normal.

Les facteurs hormonaux administrés ne modifient pas l'aspect cytologique et les caractères cytochimiques des greffons hypophysaires

L'étude biochimique,par contre,apporte des renseignements très précieux.En effet,à la suite d'injections répétées d'oestrogènes,on note une fixation de l'iode par la glande thyroide plus élevée que chez l'animal greffé non soumis au traitement. Cette fixation est d'un ordre de grandeur deux fois supérieur. On ne trouve,cependant,pas de modifications dans la chaine de synthèse de l'hormone qui demeure normale comparée à celle des greffés témoins.Au niveau plasmatique,nous notons des pourcentages relatifs du même ordre de grandeur,avec cependant une très légère augmentation du taux d'hormones,augmentation qui se répercute de façon plus notable dans les activités exprimées en coups/minute/ml :chez le greffé traité,5500, dans le lot témoin correspondant :4500 (tableau IV),la radioactivité du millilitre de plasma restant sensiblement la même.

Donc,il semble que l'injection de benzoate d'oestradiol améliore le fonctionnement du greffon hypophysaire,non seulement du point de vue ovarien (image histologique décrite plus haut),mais favorise un développement de la fonction thyroidienne,en ayant tendance à la rapprocher de celle de l'animal normal.D'ailleurs,OGAWA avait déjà trouvé chez l'animal normal, en 1955 (247),que l'oestradiol augmentait de façon remarquable la fixation de l'iode 131 par la thyroide.

Si nous considérons maintenant le métabolisme thyroidien à la suite d'injections de thyroxine,on ne constate pas de variations de taille de la glande thyroide.Elle pèse sensiblement le même poids chez l'animal et chez l'animal greffé traité. On note par contre une diminution très notable de l'acitivité thyroidienne,diminution qui se traduit par une chute très marquée de la fixation de l'iode par cette glande endocrine. Le taux de fixation se trouve être après traitement de la thyroxine de l'ordre de 0,30%,soit environ celui des rats

		THYROÏDE			SANG		
Moyenne de 10 animaux		Fixation ^{131}I en %	Acides Aminés totaux en % par rapport à la dose fixée	Thyronines $T_3 + T_4$ en % par rapport à la dose fixée	Activité 1 µl Plasma	Fraction Hormonale DOWEX 50 en %	Fraction Hormonale DOWEX 50 en cps-mp/mn.
TEMOINS		2,6	95,0	5,0	120000	1,9	2200
OESTROGÈNE	1°	7,1	93,5	5,4	110000	2,2	2400
	2°	4,7	94,7	3,7	105000	2,3	2500
	3°	5,8	93,4	3,9	115000	2,4	2700
THYROXINE	1°	0,36	92,0	3,3	30000	1,7	520
	2°	0,30	92,5	2,4	28000	1,1	320
	3°	0,34	92,0	4,7	32000	1,3	410
OCYTOCINE	1°	2,4	96,1	3,9	100000	1,7	1700
	2°	1,6	95,4	2,4	110000	1,9	2000
	3°	1,5	93,4	5,1	80000	2,8	2200

METABOLISME THYROÏDIEN à 24 heures

Rats ♀ hypophysectomisés greffés

TABLEAU IV

hypophysectomisés n'ayant pas subi de greffes.La chaine de synthèse reste normale et il y a une proportion d'hormones aisément décelable.Le millilitre de plasma présente une activité 4 fois plus faible que celle du millilitre de plasma de rat greffé témoin.Bien que les pourcentages relatifs d'hormones et d'iodure circulant demeurent sensiblement le même, l'activité en coups/minute/millilitre n'est que de 650,ce qui rejoint le niveau des hypophysectomisés simples et ceci s'explique malgré une synthèse hormonale normale par le fait que la radioactivité circulante est divisée par quatre.

On obtient des résultats analogues à ceux qui se manifestent chez l'animal normal traité à la thyroxine.Comme on le sait,la thyroxine agit sur la libération de TSH qu'elle freine. Nous avons donc ici une preuve que le greffon pituitaire placé loin de ses connexions hypothalamiques conserve les propriétés qui lui sont propres à savoir son pouvoir thyréotrope, et que,de plus,dans notre cas expérimental particulier,nous avons bien eu des greffons fonctionnels.

Enfin considérons ce qu'il advient de rats recevant une injection quotidienne d'ocytocine pendant 50 jours.Nous avons entrepris l'étude de ce produit pour des raisons que nous exposerons en détails dans le chapitre V.Mais disons immédiatement que chez l'animal hypophysectomisé greffé l'ocytocine n'a pas d'action très nette.On trouve peut-être bien au niveau thyroidien une légère diminution de la fixation;on ne note pas de répercussions dans la synthèse de l'hormone et au stade plasmatique,on trouve des pourcentages relatifs des radioactivités en coups/minute/millilitre,analogues à ceux que l'on trouve chez le rat non traité.

Donc nous pouvons conclure à la suite de ces injections répétées d'ocytocine,soit que ce produit n'a aucune action sur le métabolisme de la thyroide à ce stade (24 heures),au niveau thyroidien ou au niveau hypophysaire,soit que l'action de l'ocytocine ne peut se manifester du fait que l'hypophyse est coupée de ces connections hypothalamiques.Ce problème fort intéressant sera étudié dans le prochain chapitre.

A la suite de ces expériences,il semble donc que ce soit bien l'hypothalamus antérieur qui ajuste le niveau auquel la thyroide doit fonctionner.

L'expérimentation rapportée nous montre,en outre,que les greffes pratiquées étaient bien fonctionnelles.

CHAPITRE V

A LA RECHERCHE DU TRF

Pendant la première moitié de ce siècle,on a considéré que l'hypophyse représentait l'organe moteur des diverses glandes endocrines,particulièrement des gonades,des cortico-surrénales et de la thyroide.On admettait bien la nécessité d'un organisme de contrôle ou de freinage,et l'on pensait qu'il s'agissait d'un mécanisme sensible aux hormones libérées par les organes effecteurs,qui,arrivant au niveau de l'hypophyse par la circulation générale s'opposait aux activités gonadotrope ,corticotrope,ou thyréotrope,qui leur avaient donné naissance.Un mécanisme de "Feed - back" assurait apparemment une régulation directe de l'activité hypophysaire. Mais cette conception rendait difficile l'explication de certains phénomènes (stress,lumière...).

Dès lors s'imposait,l'idée que l'hypophyse n'était pas l'étage directeur des glandes endocrines et qu'il existait au-dessus d'elle un étage supérieur d'où descendaient les ordres.Cet étage supérieur pouvait bien être l'hypothalamus. En effet,comme nous l'avons vu,il est particulièrement intéressant d'étudier l'action thyréotrope de l'hypophyse,lorsqu'elle est soustraite à l'influenee du système nerveux central,c'est-à-dire après rupture des connections nerveuses et vasculaires entre l'hypothalamus et l'hypophyse.Nous avons pu également constater que l'intégrité de ses connections avec l'hypothalamus était nécessaire pour assurer un fonctionnement thyroidien normal.

En conséquence,il apparaissait donc nécessaire de répondre à la question suivante : par quels mécanismes l'hypothalamus exerce-t-il son action sur la fonction thyréotrope de l'hypophyse?

De toutes les théories,nerveuse,vaso-motrice,neuro-hormonale qui ont été décrites,il semble à l'heure actuelle que ce soit la dernière qui soit la plus proche de la vérité.Cette théorie neuro-hormonale fut proposée,dès 1947,par GREEN & HARRIS (129)

Elle fait intervenir des éléments nerveux et des médiateurs chimiques.Elle est étayée sur un certain nombre d'arguments d'ordre morphologique et expérimental.La découverte de la neurosécrétion hypothalamique et son observation in vivo plaident en sa faveur.La vascularisation porte et le plexus des fibres nerveuses d'origine hypothalamique qui entoure la tige pituitaire et l'éminence médiane,permet de penser qu'il peut se produire un passage de substances d'origine hypothalamique. dans le sang qui irrigue l'hypophyse.

De nombreux résultats de physiologie expérimentale sur le contrôle de la sécrétion de l'hormone thyréotrope ont conduit à postuler l'existence d'une neuro-humeur hypothalamique,qui serait le médiateur final,au niveau du parenchyme ante hypophysaire,de ce contrôle exercé par le diencéphale,(BOGDANOVE , 1962) (39).

En effet de nombreuses expériences ont été faites pour produire la décharge de TSH sur le chien,le lapin,le rat, la souris.(BORREL 1945) (42),(BARTHOLOMEI & MARCHETTO 1955) (25),(CURRI & FEDELI 1955) (86),(OTTAVIANI & AZZALI 1955) (248),(SPIGOLON 1955)(302),(SHIBUSHAWA 1956)(294-295-296), SCHREIBER (1956) (283) et BAKKE(1958) (15) ont pu montrer que l'injection d'extraits hypothalamiques produisait une stimulation de la thyroide.Mais c'est SHIBUSHAWA (293-296-298) que revient le mérite d'avoir le premier isolé un facteur stimulant la sécrétion de la TSH.Evidemment c'était là une voie pleine de promesses pour de futures recherches.Aussi nombreux,sont les auteurs qui ont essayé de définir la nature exacte d'un tel composé.

Dès 1956,SHIBUSHAWA et Coll.(294 - 295- 296) isolèrent de l'hypothalamus une fraction thyréo-stimulante,dont la concentration et la purification étaient faites sur DOWEX 50X4 ,par élution avec un tampon citrate de pH 3,1.La fraction IX appelée T_9 serait la seule active.Cette substance " active" fut désignée sous le nom de TRF (Thyrotropin releasing factor).Plus récemment ABE 1961 (1) donnait d'intéressants détails sur l'isolement et la structure de ce composé:le TRF brut pouvait être également précipité dans l'urine,par un mélange sulfate de zinc

ferrocyanure,puis extrait par l'alcool à 97%.Si l'on pratique une électrophorèse en tampon citrate pH 8,5,le TRF brut va vers la cathode.Sur résine échangeuse d'ions DOWEX 50,on l'isole dans la fraction acide.Il montre un maximum d'absorption dans l'ultra-violet entre 240 et 280 m .Chimiquement, ce n'est ni une protéine ni un lipide.La chromatographie mono et bidimensionnelle sur papier suggère que c'est probablement un peptide.Il présente une réaction positive à la nihydrine,ainsi qu'au réactif de SAKAGUSHI.

Une étude complète de l'activité biologique du TRF fut publiée par SHIBUSHAWA & Coll. en 1959 (297 - 298-299).

- L'administration à des chiens d'un extrait hypothalamique, sanguin ou urinaire,produit une augmentation de la sécrétion de TSH dans le sang.

- L'extrait urinaire est passé sur DOWEX 50 et la fraction TRF (Thyrotropin releasing factor) a pu être isolée.Cette fraction provoque chez l'animal une décharge de TSH.

- Après lésion de la région suprachiasmatique chez le rat,la fonction thyroidienne est très fortement diminuée.L'administration de cet extrait peut à nouveau l'augmenter.

- A la suite de lésions comparables chez le chien,on peut constater que le TRF disparait des milieux où l'on pouvait le trouver auparavant : hypothalamus,sang,urine.Il n'y réapparait que très lentement et sa concentration maximum se trouve alors dans l'hypothalamus et non dans la post-hypophyse,comme c'est le cas chez l'animal normal.

Dans une publication plus récente (1960) SHIBUSHAWA (293) résume les principaux effets du TRF de la façon suivante :
- chez les mammifères,le TRF,injecté durant 7 jours,produit chez l'animal normal une augmentation remarquable du poids de la glande thyroide,du PBI ,du rapport T/S,pas de manifestation semblable chez l'animal hypophysectomisé.Dans le cas de rats hypophysectomisés greffés porteurs de section de la tige pituitaire ou dont l'hypothalamus antérieur a été détruit, on note la même réponse que chez l'animal normal.

Chez les amphibiens,le TRF provoque chez " rana rugosa" une accélération de la métamorphose.

- Le TRF peut être isolé dans l'hypothalamus antérieur la post-hypophyse,le liquide cérébrospinal,le sang,l'urine, aussi bien chez l'homme que chez l'animal.Il est inactivé par incubation à 38° en présence de foie ou de rein.

Les injections répétées de TRF chez le rat albinos ou la souris produisent l'hyperfonctionnement et même des tumeurs de la glande thyroide.

Et SHIBUSHAWA de conclure : le centre régulateur de la thyroide situé dans l'hypothalamus antérieur,produit un facteur neuro-humoral stimulant la sécrétion de la TSH.Le principe actif apparait dans le système circulatoire et le liquide cérébrospinal,il est inactivé par le foie et finalement excrété dans l'urine.Son activité se manifeste chez plusieurs espèces animales.

Donc il existerait,d'après SHIBUSHAWA,un facteur stimulant la décharge de TSH qui serait synthétisé dans l'hypothalamus antérieur mais qui serait concentré dans la neuro- hypophyse.

LIBERT 1962 (206) a pu reproduire les résultats de SHIBUSHAWA en administrant à des rats non lésés un extrait brut d'hypothalamus de porc:

- la mesure de la libération de l'hormone marquée par comptage de la radioactivité au niveau de la thyroide a donné des résultats comparables à ceux obtenus par HARRIS à la suite de stimulation et à ceux de SHIBUSHAWA.
- Chez le rat,l'extrait d'hypothalamus de porc agit à des doses très faibles et produit la sécrétion de TSH.

Nous-mêmes,reprenant la technique de SHIBUSHAWA,avons pu isoler une substance répondant aux caractéristiques données par ABE (1).La bande d'absorption a été caractérisée au spectrophotomètre.Injecté au rat ce produit entraine dans les premières heures qui suit son injection,une augmentation de la quantité d'hormone thyroidienne dans le plasma.Cette augmentation se traduit par 3 ou 4 fois le taux de radioactivité isolée sur DOWEX 50 (séparation des fractions iodées plasmatiques selon la technique de BLANQUET 1960 (35) (tableau V).

"TRF" selon SHIBUSHAWA durée d'action 3h	PLASMA - Fraction hormonale - DOWEX 50	
	en pourcentage	en coups/minute/millilitre
TÉMOINS moyenne de 20 rats	2,0	3500
moyenne de 10 rats		
1° série	7,5	13590
2° série	8,4	7900
3° série	6,9	9400

Métabolisme thyroïdien - Rats mâles - TABLEAU V

D'une toute autre manière,SCHREIBER (283-284-285 - 286-287-288-289) utilisant la filtration sur Séphadex G 25,a pu isoler une fraction non protéique d'extrait aqueux d'hypothalamus capable de stimuler in vitro l'activité des phosphatases de la pituitaire.(SCHREIBER & KMENTOVA 1959)(286). Cet extrait est également capable de stimuler l'activité du rein et du foie.Plus récemment,ces mêmes auteurs ont rapporté que l'extrait"TRF" lorsqu'il est directement injecté dans la glande produit une décharge de TSH chez l'animal porteur d'une greffe hypophysaire intra-oculaire,comme le prouve le maintien de poids de la thyroide (1961)(287).Cet extrait ne provoque pas une augmentation de l'activité thyroidienne quand il est injecté,de façon systématique,au rat et ne produit pas la décharge de TSH,lors de l'incubation avec la glande in vitro.Cependant il semblerait nécessaire,pour affirmer le rôle physiologique de ce "TRF" d'utiliser des méthodes plus spécifiques que l'activité phosphatasique.

Mais le fait que TRF de SCHREIBER n'est pas actif de façon systématique conduit à penser qu'il n'est pas identique à celui de SHIBUSHAWA.

GUILLEMIN (150) et Coll. ont pu montrer "l'existence,dans des extraits d'hypothalamus,d'une substance qui répond aux caractéristiques attendues d'une neuro-humeur".Deux zones d'activité A et B sont constamment retrouvées avec le test pour TSH (méthode adaptée de la technique Mc KENZIE,chez la souris et le rat),surl'ensemble des fractions obtenues à partir de l'hypothalamus.La première zone A,qui persiste après hypophysectomie,correspond à des substances de poids moléculaire élevé,non retenues sur Sephadex G 25,elle correspond probablement à la TSH.La deuxième zone B,qui n'est plus active après hypophysectomie,correspond à des substances d'un poids moléculaire peu elevé.L'activité de cette fraction B dépend du taux de thyroxine circulante.Elle est localisée dans l'effluent,en dehors des pics correspondant à la vasopressine et à l'ocytocine.Et pour GUILLEMIN,cette fraction B pourrait correspondre au médiateur physiologique du contrôle hypothalamique de la sécrétion thyréotrope.

BACHRACH,LASZLO et Coll.(14)1962,indiquent qu'un facteur hypothalamique semble se concentrer dans l'hypothalamus postérieur,qu'il est suceptible de modifier la fonction thyroidienne d'animaux jeunes et qu'il n'existe pratiquement plus chez l'animal âgé.Ce facteur se différencie du TRF de SHIBUSHAWA,non seulement par sa localisation,mais encore par le fait qu'il produit à la fois une diminution de la fixation de l'iode et une augmentation de poids de la thyroide.

Enfin:SCHINDLER,GARCIA & HARRIS (123-281)1962 ont trouvé que des extraits acétiques de tissu d'éminence médiane augmentaient la fonction thyroidienne du lapin.

Pour notre part,nous nous sommes contentés d'essayer de déterminer par tatonnements successifs,en jouant sur la nature de la chaine peptidique de différentes hormones posthypophysaires,quelles étaient les substances qui avaient le plus grand retentissement sur la fonction thyroidienne et quels étaient leurs fragments de chaine communs.Car nous pensons que c'est une molécule relativement simple qui intervient comme déterminant de la sécrétion de TSH et non une très longue chaine.Si cette hypothèse était valable plusieurs substances seraient capables d'agir sur la thyroide par voie exogène du fait qu'elles renferment le maillon préférentiel.

C'est pourquoi,grâce à l'amabilité de SANDOZ (Bâle), nous avons essayé d'envisager les répercussions que pouvaient avoir sur le métabolisme thyroidien,les hormones post-hypophysaires telles que la vasopressine,l'ocytocine et un certain nombre de leurs dérivés obtenus par échange de l'un ou l'autre des acides aminés de la chaine peptidique.Nous nous sommes engagés dans cette voie,car de nombreux auteurs ont pu montrer que ces hormones post-hypophysaires provoquaient des modifications du métabolisme thyroidien.

OGAWA & coll. (1956) (247) ,DUBREUIL ET MARTINI 1956 (97), BOTTARI 1957 (44) avaient suggéré que la vasopressine était capable d'accroître le métabolisme thyroidien.

MERTZ (229-230-231) montra que la vasopressine stimulait la thyroide lorsqu'elle était utilisée à fortes doses. Le même résultat était obtenu avec un extrait thyroidien à activité essentiellement antidiurétique. Il pouvait s'agir de vasopressine souillée d'ADH ou vice-versa. Selon cet auteur, l'action de la vasopressine et de l'ADH sur la thyroide pouvait être due à une similitude de structure avec le TRF (Thyrotropin releasing factor).

Récemment MAEDA (214) a déterminé le retentissement de la vasopressine et de l'ocytocine sur le métabolisme thyroidien en utilisant différents tests : poids de la thyroide, fixation de ^{131}I par la glande, PBI, rapport T/S. Chez le rat, le chien et l'homme, l'injection sous-cutanée de vasopressine se traduit au niveau plasmatique par une augmentation immédiate du taux de TSH, associée à une forte accélération de la fonction thyroidienne. Chez les sujets présentant des troubles endocriniens, la réponse à la vasopressine est encore plus marquée que chez les sujets normaux.

Enfin, l'animal hypophysectomisé ne manifeste aucune réaction à l'injection, alors que l'animal ayant subi une section de la tige, avec mise en place d'une plaquette isolante entre les deux bords de la section (cellophane), réagit par une augmentation sensible de son taux, de TSH plasmatique.

Ces faits permettent donc d'envisager un effet de la vasopressine sur le système hypophyso-thyroidien; la transmission serait humorale et la commande effectuée par le lobe antérieur de l'hypophyse.

Parmi les substances à action hypothalamique telles que: réserpine, chlorpromazine ou phénobarbital, administrées simultanément, seul le phénobarbital est capable de supprimer l'augmentation de TSH qui suit l'injection de vasopressine.

Avec l'ocytocine, les résultats sont analogues, mais présentent moins d'intensité.

SCHINDLER (281) confirma que la vasopressine exerçait effectivement une action notable sur le métabolisme thyroidien (augmentation du taux de TSH plasmatique).Mais selon cet auteur il ne s'agirait pas d'une médiation par une substance à activité hypothalamique,hypophysaire,mais d'une action directe sur la thyroide,puisque,dans ces expériences,il obtient une réponse identique chez le lapin normal et hypophysectomisé.

Dans le même ordre d'idées, nous avons donc entrepris l'étude de différents produits post-hypophysaires,sur le métabolisme thyroidien.A cet effet,nous avons administré exclusivement des produits synthétiques,qui seuls nous permettent du fait de leur activité biologique constante,d'obtenir des résultats parfaitement reproductibles.D'ailleurs,il est très difficile d'avoir des extraits post-hypophysaires d'une pureté absolue,c'est-à-dire ne présentant qu'une des activités de ce lobe postérieur:ocytocique,lactagogue,vasopressine,ou, antidiurétique.De récentes recherches de DU VIGNEAUD (318-325-326) avaient abouti à l'isolement de deux peptides,l'un nommé ocytocine,l'autre vasopressine.Un immense progrès a été réalisé lorsque ces auteurs en ont eu effectué la synthèse. On pouvait ainsi disposer de substances de constitutions chimiques parfaitement définies,et d'activité biologique constante.

TECHNIQUES EXPERIMENTALES.

Nous avons utilisé des rats mâles albinos,souche Wistar, d'un poids moyen de 250 grammes,subissant l'administration de:
- vasopressine (lysine 8 vasopressine) 0,1 unité par rat.
- octapressine (phényl 2 lysine 8 vasopressine)0,1 unité par rat
- ocytocine (produit expérimental très hautement purifié) 0,1 unité par rat,
- OTI 98 (isoleucine 8 ocytocine) 0,05 unité par rat
- Syntocinon (ocytocine commerciale) 0,1 unité par rat
- CRA 41 (homologue supérieur de la lysine 8 vasopressine à activité CRF) 0,05 mg par rat.

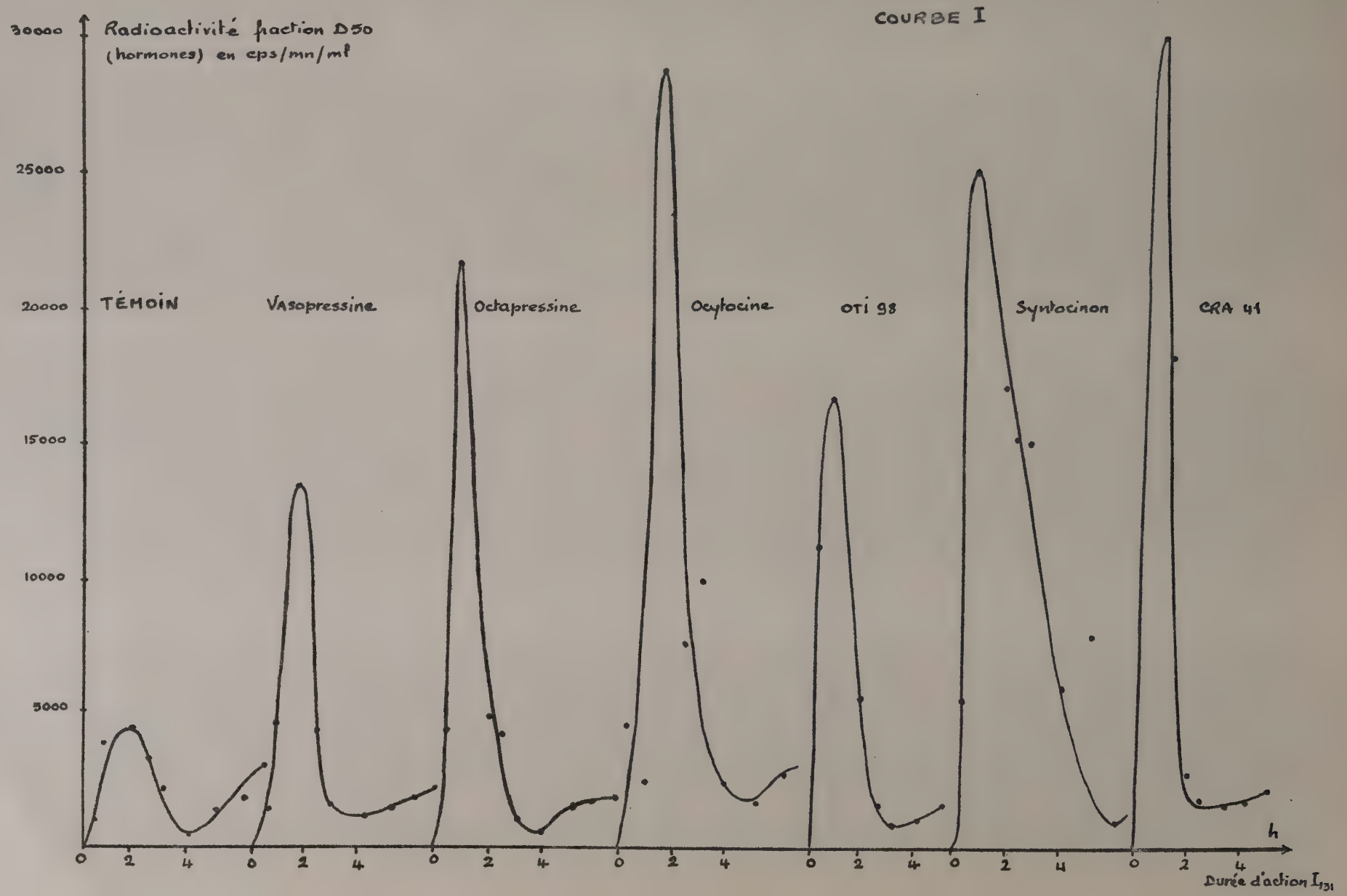
Cette étude a été effectuée au moyen de l'iode 131 et des résines échangeuses d'ions.Les animaux répartis en plusieurs lots,reçoivent une dose déterminée de peptide synthétique par voie intrapéritonéale,et une heure après 50 µc de ^{131}I par la même voie.Le lot témoin he reçoit donc que l'injection de traceur.Les rats sont sacrifiés à des temps variés;après l'injection d'iode et la totalité du plasma prélevée sur héparine au niveau de l'artère rénale.

Le dosage des fractions iodées plasmatiques est effectué selon la technique décrite par BLANQUET & coll. en 1960 (35) On obtient très rapidement trois fractions :
- l'iodure qui est fixé sur Dowex 1,
- les hormones qui sont retenues sur Dowex 50,
- une fraction "protéine iodée" que l'on recueille par élution au ClNa 9‰ du système DOWEX 1-DOWEX 50.

RESULTATS EXPERIMENTAUX

La courbe I indique les radioactivités obtenues pour différents stades après l'injection de ^{131}I,selon les peptides utilisés.Ces résultats concernent seulement la fraction hormonale (fixée par DOWEX 50) présente dans le sang au moment du sacrifice.En effet,des chiffres donnés en pourcentage par rapport à l'activité totale du millimitre de plasma ne permettraient pas de se rendre compte de l'existence d'un phénomène rapide et de ses variations éventuelles.Car,dans les premières heures qui suivent l'injection de ^{131}I le taux d'iodures circulant est très grand par rapport au taux d'hormones marquées libérées par la thyroide.En conséquence,des fluctuations de ce pourcentage ne rendraient que très mal compte des variations de radioactivité,pourtant importantes,se produisant au sein de la fraction organique dès les premières heures qui suivent l'injection de ^{131}I.

Tous nos résultats sont étroitement comparables,la dose d'iode 131 administrée à chaque animal étant identique.De plus, nous avons pris la précaution d'utiliser des rats de même souche,de même élevage et de même poids,qui présentaient,donc, des masses sanguines très voisines les unes des autres.


COURBE I
Radioactivité fraction D50
(hormones) en cps/mn/mf
30000
25000
20000
15000
10000
5000
TÉMOIN
Vasopressine
Octapressine
Ocytocine
OTI 98
Syntocinon
CRA 41
0
2
4
h
Durée d'action I_{131}

Comme on le voit sur la courbe (1),nous nous sommes particulièrement attachés à faire une étude très détaillée des huit premières heures suivant l'injection de radio-iode.

En effet,comme RIVIERE et Coll.(262),ou,comme nous-mêmes (37) à la suite ,nous avons pu le confirmer,il existe dans le plasma un composé iodé de nature peptidique ou polypeptidique à métabolisme rapide dont la durée de vie est de l'ordre de 7 à 9 heures.Son apparition se traduit par une flèche de radioactivité de la fraction hormonale dès la première heure qui suit l'injection de radioiode.Le maximum de cette flèche se situe,selon les cas,entre 2 et 3h 30.

La courbe (1) montre nettement qu'il existe,dans tous les cas,une flèche d'amplitude consid rable dans le sang des animaux traités au moyen des hormones synthétiques post-hypophysaires.De plus,la flèche survient entre 2 et 3h 30 après l'administration du peptide.Ce phénomène se produit en l'absence de toute injection et peut être mis en évidence chez l'animal témoin.(262).Mais,son amplitude est entre 4 et 10 fois inférieure à celle que l'on constate chez les animaux traités.

Parmi les substances expérimentées,le Syntocinon;l'Ocytocin (hautement purifiée) et le CRA 41# manifestent un effet très important,l'Octapressine et la Vasopressine possède encore une activité notable.

Restait à savoir si ces hormones post-hypophysaires synthétiques étaient à action hypothalamique,ou hypophysaire,vis-à-vis de la thyroide.Une expérience simple pouvait permettre d'envisager une réponse : l'administration de TSH.

- les chainons aminés inclus dans la molécule de peptide étaient identiques à certains chainons compris dans la molécule de TSH,l'administration d'ocytocine,de vasopressine ou de leurs dérivés serait donc susceptible de produire des effets analogues à une injection de TSH,les hormones post-hypophysaire

---

Produit expérimental SANDOZ.

Moyenne de 10 animaux	durée iodée	THYROÏDE			SANG		
		Fixation ^{131}I en %	Acides Aminés totaux en % par rapport	Thyronines T_3+T_4 en % à la dose fixée	Activité 1 ml Plasma	Fraction Hormonale Dowex 50 en %	Fraction Hormonale Dowex 50 en cps - ml / mn
TÉMOINS	0.30	5,4	71,0	1,5	85700	1,4	1200
	1 h	7,2	85,4	2,3	126500	2,0	3800
	2 h	5,3	91,8	4,0	125000	2,8	3500
	3 h	4,6	87,4	4,9	74000	2,7	2100
	4 h	4,5	93,6	2,4	60400	1,1	650
VASOPRESSINE 0,1 unité In.	0,30	5,8	79,3	2,2	123500	1,3	1600
	1 h	13,3	84,1	3,3	129000	3,8	4900
	2 h	6,7	92,0	3,9	128400	10,5	13500
	3 h	5,7	92,6	2,9	80900	2,1	1700
	4 h	4,8	89,3	3,0	68400	1,9	1300
Ocytocine 0,1 U.I	0.30	1,5	78,8	3,2	112200	1,4	1600
	1 h	2,1	83,2	5,2	110200	2,5	2700
	2 h	9,8	90,6	9,1	172800	16,4	28700
	3 h	11,1	92,6	7,5	153600	6,4	10000
	4 h	5,6	93,6	4,1	62200	3,8	2300
TSH 3 U H.L	0,30	1,5	67,5	1,5	90400	2,1	1900
	1 h	6,2	87,0	2,5	74000	3,7	2750
	2 h	8,4	92,0	6,0	51100	7,0	3600
	3 h	11,8	92,5	6,5	34000	3,2	1090
	4 h	15,4	96,6	4,4	32100	3,0	930

METABOLISME THYROÏDIEN _ Rats ♂

TABLEAU VI

ont une action thyréotrope.
- les chainons aminés ne sont pas comparables à ceux de la molécule de TSH,l'administration de ces peptides donnent une réponse différente de celle de la TSH.Ces molécules peptidiques synthétiques peuvent avoir une action du type TRF donc hypothalamique.

Nous avons étudié la réponse à la TSH (3 Unités H.L.) Organon,chez le rat dans les mêmes conditions que celles des hormones post-hypophysaires synthétiques (tableau VI). La TSH provoque une augmentation à peine notable du phénomène rapide,on n'assiste pas à une réponse spectaculaire du type de celle provoquée par les polypeptides post-hypophysaires et synthétiques.

A titre d'hypothèse,on pourrait penser que le produit X à métabolisme rapide dont nous poursuivons l'isolement dans le plasma,possèderait éventuellement une activité TRF. L'injection d'hormones post-hypophysaires synthétiques,augmentant de façon considérable la production de ce composé,ils serait fort possible que le TRF,c'est-à-dire la substance qui stimule la production de TSH,présente une similitude de structure avec la totalité ou un fragment de ces chaines polypeptidiques. En somme, en réalisant ce type d'expérience, on injecterait un TRF d'origine exogène, auquel l'organisme répondrait par une augmentation d'amplitude du phénomène rapide.

Dans le but de confirmer l'action hypothalamique de ces polypeptides, nous avons envisagé leur action chez le rat femelle normal,l'animal hypophysectomisé et l'animal hypophysectomisé greffé.Ce sont ces résultats que nous rapportons dans le tableau VII qui met uniquement en évidence,la fraction hormonale,c'est-à-dire celle captée par la résine Dowex 50 lors de la séparation des fractions iodées plasmatiques par la méthode BLANQUET -MEYNIEL (35).Comme on peut s'en rendre compte,les chiffres sont anormalement bas chez l'animal hypophysectomisé.Le nombre de coups/minute/millilitre et le pourcentage d'hormones circulante dans le cas du rat femelle hypophysectomisé greffé,opéré dans les conditions exposées

Durée d'action	PLASMA - FRACTION DOWEX 50 - HORMONALE					
OCYTOCINE	Rats Normaux		Rats Hypophysectomisés		Rats Hypophysectomisés - greffés	
Moyenne de 10 animaux	%	cps/mn/ml	%	cps/mn/ml	%	cps/mn/ml
1 h 30	2,2	5200	0,4	320	2,6	7400
2 h	3,0	6100	0,6	410	5	16500
2 h 30	8,5	19900	1,1	770	6,1	15000
3 h	3,9	7400	1,8	1230	5	10000
3 h 30	2,9	4800	0,6	480	3,9	5900
4 h	1,9	4200	0,5	270	2,5	4300
5 h	1,5	2200	0,4	250	2,4	3400

METABOLISME THYROÏDIEN

RATS ♀ Hypophysectomisés greffés

TABLEAU VII

dans le chapitre IV sont analogues à ceux que l'on trouve chez l'animal normal,n'ayant reçu que l'ocytocine.(Tableau VII)

On voit donc que les recherches concernant l'isolement de ce "TRF" sont déjà assez avancées,que des présomptions concernant sa nature chimique peuvent être données et que sans nul doute sa nature exacte sera bientôt connue.

On disposera,alors,en quelque sorte,d'une super stimuline c'est-à-dire d'une substance capable de provoquer la sécrétion de la stimuline hypophysaire.Les conséquences de cette acquisition seroht vraisemblablement très importantes en physiopathologie thyroidienne.

CHAPITRE VI

Au cours de ce travail,nous pensons avoir apporté une modeste contribution au problème complexe du contrôle hypothalamique du métabolisme thyroidien.

Pour mettre en évidence de manière précise ce contrôle nous avons utilisé les méthodes les plus simples,et celles pour laquelle nous étions le mieux préparés.Après une courte discussion sur leurs avantages et leurs inconvénients nous. rapporterons les conclusions auxquelles nous sommes parvenu.

Comme de nombreux auteurs (114) (122) (130) (158), nous nous sommes adressés tout d'abord, aux méthodes stéréotaxiques qui,ainsi que nous l'avons vu,permettaient d'effectuer des lésions très localisées de l'hypothalamus.Les acquisitions consécutives à nos expériences,confirment tous les résultats déjà publiés : la lésion doit être effectuée dans l'hypothalamus antérieur.Nous avons par ailleurs défini avec précision les paramètres qui permettaient de rendre ces destructions effectives et nous avons pu confirmer qu'il existait,dans l'hypothalamus antérieur, une aire bien définie,située entre le noyau ventromédian et le noyau paraventriculaire dont la lésion entrainait des effets thyroidiens caractéristiques.Cette aire était déjà connue sous le nom d'aire de GREER ou de la TSH. Nous avons pu,ainsi,abjectiver par notre contribution personnelle son existence.

Mais il est bien évident que cette méthode stéréotaxique ne constituait pas une technique idéale puisque l'hypothalamus restait en place et que les connections hypophyso-hypothalamiques étaient intégralement maintenues.

Comme nous l'avons vu,on pouvait alléguer l'existence de lésions stéréotaxiques non ponctuelles,de processus de diffusion pathologique,de tissu cicatriciel à leur niveau.L'expérience idéale consistait dès lors à couper toutes les communications au niveau de l'hypophyse ce que nous avons effectué en enlevant puis en greffant l'hypophyse.Grâce à l'amabilité

du Professeur Agrégé MEUNIER,nous avons eu la possibilité d'hypophysectomiser des rats,puis de greffer immédiatement l'hypophyse prélevée,sur le même animal,au niveau de la capsule du rein.Les conséquences de cette opération,ont été rapportées et la conclusion importante qui s'en dégage est que l'hypothalamus ajuste le niveau métabolique auquel la thyroide fonctionne.

Nous avions pensé,au début de nos expériences,qu'il serait suffisant de couper simplement la tige hypophysaire,mais sur une suggestion de BLANQUET,nous avons abandonné cette technique,étant donné la très grande facilité de régémération des capillaires au niveau de la section.

A notre point de vue,ces expériences d'autogreffe sont très importantes,car ce sont elles qui constitue un apport majeur pour le problème du contrôle hypothalamique.

Il restait à examiner une question très importante.Par quelle voie l'hypothalamus exerce-t-il son contrôle?A la suite de nombreux travaux,dont nous avons exposé l'essentiel,il semble bien que ce contrôle soit neuro-hormonal,et que l'hypothalamus antérieur sécrète une substance particulière,soit au niveau des filets hypothalamiques,soit associée à la neuro-sécrétion et ayant lapropriété de venir stimuler l'hypophyse antérieure en passant au niveau du système porte.L'école japonaise de SHIBUSHAWA (294-298) prétend avoit isolé ce facteur,mais sa nature chimique n'est pas jusqu'ici entièrement élucidée.Son injection provoquerait la sécrétion de TSH qui,elle-même entrainerait celle de thyroxine.Ce composé,d'après les auteurs japonais,circulerait dans le sang et serait éliminé par les urines, sa concentration serait maxima au niveau de l'hypothalamus antérieur.Comme nous l'avons dit,nous avons pu reproduire une partie des expériences de SHIBUSHAWA,puisqu'en utilisant ses méthodes d'extraction,nous avons obtenu par injection de cette substance à l'animal neuf,la stimulation de son métabolisme thyroidien.Nous avons pensé,par raisonnemant inverse,que des substances d'origine hypothalamique pourraient

stimuler le métabolisme thyroidien,et que des molécules du type ocytocine,vasopressine,pourraient globalement ou sous forme métabolique,constituer des facteurs TRF.Nous rapportons dans le chapitre V,nos expériences originales et leurs résultats positifs.Cette approche du problème du TRF nous semble meilleure que celle de SHIBUSHAWA,puisque nous avons pu opérer avec des substances synthétiques de nature chimique parfaitement définie,Ces substances d'origine hypothalamique ocytocine,vasopressine,entrainent l'apparition dans le sang, très rapidement,après leur injection,d'un peptide iodé de courte vie,dont le métabolisme et la phydiologie mériteraient d'être plus amplement précisés.

Enfin,à titre d'hypothèse,pour de futures recherches,il n'est pas illogique de penser que ce peptide pourrait jouer un rôle important dans le mécanisme classique du "feed-back" hypophyso-hypothalamique.A cet effet,les hormones circulantes, thyroxine et éventuellement triiodothyronine,agissent à deux niveaux : au niveau de l'hypophyse,en réduisant la sécrétion de TSH,sans période de latence,et au niveau de l'hypothalamus antérieur,en produisant le même effet mais avec une période de latence.Les hormones thyroidiennes se comportent donc comme des freinateurs hypophysaires et hypothalamiques;il n'est,par conséquent,pas interdit de penser qu'il existe un accélérateur, agissant à ces deux mêmes niveaux et que cet accélérateur serait le peptide dont nous avons signalé l'existence ,peut être bien le TRF lui-même.

Nous ne prétendons pas par ce travail avoir épuisé ce sujet mais nous pensons avoir montré que les preuves du contrôle hypothalamique de la glande thyroide sont indiscutables et que les problèmes biochimiques qu'il pose ne sont pas très loin d'être résolus;puisqu'il a été possible de trouver des substances d'origine hypothalamique qui agissent fortement sur le métabolisme thyroidien.

Bien sûr,il faut se souvenir que l'hypothalamus est un tout,et que pour qu'il exerce son contrôle,il faut que ses connections,si subtiles avec le reste du cerveau soient maintenues intactes.Nous savons bien que ce sont les hormones qui maintiennent l'hypothalamus à un niveau stable et c'est pourquoi les études de stimulation en présence d'hormones telles que les a imaginées le Professeur J.FAURE présentent un très grand intérêt.

L'hypothalamus est en connection avec tous les faisceaux sensitifs afférents,avec les systèmes posturaux et moteurs, il est aussi intimement lié à des formations vasculaires spéciales.Très sensible aux variations osmotique et humorale, il représente un mécanisme intégrateur entre les fonctions de l'organisme nécessaires à l'accomplissement de toutes ses activités,il est également lié au comportement et à la réceptivité,au métabolisme et à la régulation hormonale.

Cette structure complexe,incluse à la fois dans des mécanismes nerveux et vasculaires a la propriété de maintenir par des mécanismes cybernétiques l'homéostase de l'organisme. Son rôle primordial dans le contrôle des métabolismes hormonaux est maintenant un fait accompli,et il n'est pas douteux que l'on doive,dès à présent,le considérer comme le véritable " cerveau endocrinien" nom qui jusqu'ici était réservé à l'hypophyse.

CONCLUSIONS

Les différentes acquisitions dans le domaine des relations hypothalamo-hypophyso-thyroidiennes ont été exposées, et les diverses techniques d'étude rapportées en détail.

Notre contribution originale a porté sur :

a) des expériences de stéréotaxie, qui nous ont permis de confirmer l'existence d'une aire hypothalamique antérieure au niveau de laquelle les destructions se traduisent par des effets particulièrement nets au niveau thyroidien.

b) des expériences d'hypophysectomies suivies d'autogreffes, dont les résultats constituent à notre avis une preuve irréfutable du contrôle hypothalamique de la glande thyroide.

c) L'étude de l'action de substances du type ocytocine, vasopressine, etc... qui entrainent un retentissement important au niveau thyroidien. Leur injection provoque dans le sang l'apparition d'un peptide iodé, de courte vie, qui pourrait éventuellement jouer un rôle accélérateur dans le mécanisme du feed back thyroidien, s'opposant ainsi à l'action freinatrice des hormones.

Ces données sont en accord avec lesttravaux de l'Ecole Japonaise (SHIBUSHAWA & Coll.) concernant la mise en évidence d'un médiateur chimique d'origine hypothalamique, connu sous le nom de TRF (Thyrotrophin releasing factor).

Vu :

Le Doyen,

F. TAYEAU.

Vu, bon à imprimer :

Le Président,

P. BLANQUET.

Vu et permis d'imprimer :

Bordeaux, le 12 juin 1963.

Le Recteur,

J. BABIN.

BIBLIOGRAPHIE

1 - ABE C. (1961) - Folia endocrinol. Jap. 36 1705

2 - ACHER R. - CHAUVET J. & LENCI M.T. (1958) - Bull. Soc. Chim. Biol. 40 2005

3 - ACHER R. - CHAUVET J. & OLIVRY G. (1956) - Biochim. Biophys. Acta. 22 421

4 - ADAMS B. & HOLMES E.L. (1935) - J. Soc. Chem. Ind. 54 1

5 - ALBERT A. (1951) - Endocrinology 48 334

6 - d'ANGELO S.A. & TRAUM R.E. (1956) -Endocrinology 59 293

7 - ARON M. & PETROVIC A. (1961) - J. Physiol. (PARIS) 53 251

8 - ARVY L. - FONTAINE M. & GABE M. (1955) - Arch. Anat. Microscop. Morphol. Exptl. 44 313

9 - ARVY L. - FONTAINE M. & GABE M. (1955) - Compt.Rend; Assoc. Anat. 42° Réunion PARIS p. 224

10 - ARVY L. - FONTAINE M. & GABE M. (1956) - C.R. Soc Biol. 150 625

11 - ARVY L. - FONTAINE M. & GABE M. (1957) - J. Physiol. (PARIS) 49 685

12 - ARVY L. - FONTAINE M. & GABE M. (1958) - Colloque de Biophysique BORDEAUX SEDES Publ. PARIS 1961 p. 97

13 - AVERILL R.L.W. - PURVES H. D. & SIRETT N.E. (1961) - Endocrinology 69 735

14 - BACHRACH D. - LASZLO A. - SZABO E.B. - PETTKO E. & KORPASSY B. (1962) - Nature 194 583

15 - BAKKE J.L. & LAWRENCE N. (1958) - Clin. Research 6 244

16 - BARBIER M. - JAGER H. - TOBIAS H. & WYSS E. (1959) - Helv. Chim. Acta 42 2440

17 - BARGMANN W. (1957) - Proc. 8th Symposium Colston Research Soc. Bristol 8 11

18 - BARGMANN W. (1958) - Triangle Sandoz J. Med. Sci. 3 207

19 - BARRACLOUGH C.A. & SAWYER C.H. (1957) - Endocrinology 61 341

20 - BARRNETT R.J. & GREEP R.O. (1951) - Am. J. Physiol. 167 569

21 - BARRY J. (1954) - Bull. Soc. Sci; Nancy 13 49
22 - BARRY J. (1954) - C.R. Soc. Biol. 148 1459
23 - BARRY J. (1956) - in"Pathophysiologia Diencephalica", International Symposium,MILAN,SPRINGER Publ. Vienne,p.31
24 - BARRY J. (1958) - C.R. Soc. Biol. 152 809
25 - BARTHOLOMEI G. & MARCHETTO G. (1955) - Biol. Latina 8 1
26 - BAUMANN E. (1895) - Z. Physiol. Chem. 21 3I9
27 - BAUMANN E. (1896) - Munch Med. Wschr. 43 309
28 - BENOIT J. & ASSENMACHER I. (1955) - J. Physiol. (PARIS) 47 427
29 - BLANCHARD R.L. - LEDDICOTTE G.W. & MOELER D.W. (1959) -Proc. 2nd Conf. Peaceful Uses Atomic Energy GENEVE (1958) A/CONF/ 15/P/796
30 - BLANQUET P. (1955) -Actes Conf. Intern. GENEVE 10 389
3I - BLANQUET P. (1959) -C. R. Acad. Sci. 249 1151
32 - BLANQUET P. (1962) - Advances in Biological and Medical Physics 8 226
33 - BLANQUET P.- DUNN R.W. & TOBIAS C.A. (1955) - Arch. Biophys. Biochim. U.S.A. 58 502
34 - BLANQUET P. - MEYNIEL G. - MOUNIER J. & TOBIAS C. A. (1957) - Bull. Soc. Chim. Biol. 39 4I9
35 - BLANQUET P. MEYNIEL G. & SAVOIE J.C. (1960) - C.R. Acad. Sci. 250 217
36 - BLANQUET P. & TOBIAS C. A. (1958) - Clin. Research 6 52
37 - B LANQUET P. - VRIGNAUD C. - CROIZET M. - BRANDRICK A. & MEYNIEL G. (1963) C. R. Soc. Biol. Séance du 27 Mars sous presse.
38 - BLOCH W. (1943) - Hel. Physiol. Pharmacol. Acta 1 53
39 - BOGDANOVE E.M. (1962) - Feder. Proc. U.S.A. 21 623
40 - BOGDANOVE E.M. & HALMI N.S. (1953) - Endocrinology 53 274
41 - BOGDANOVE E.M. - SPIRTOS B.N. & HALMI N.S. (1955) - Endocrinology 57 302
42 - BORELL U. (1945) - Acta Med. Scand. 161 suppl. 1 227
43 - BORN H.J.& STARK H. (1959) - Atomkernenergie4 286

44 - BOTTARI P.M. (1957) Ciba Found. Colloq. Endocrinol. 11 52

45 - BoWDEN C.H. - Mac LAGAN N.F & WILKINSON J.H. (1955) - Biochem. J. 59 93

46 - BOWEN H.J.M. (1959) - Biochem. J. 73 381

47 - BOYD G.E. (1949) - Anal. Chem. 21 335

48 - BRAASCH J.W. - FLOCH E.V. & ALBERT A. (1954) Endocrinology 55 768

49 - BRENNER M. & NIEDERWIESER A. (1960) Experientia 16 378

50 - BROLIN S.E. (1945) - Acta Anat. 1 Suppl. 3 165

51 - BROLIN S.E. (1947) - Acta. Physiol. Scand. 14 233

52 - BROOKSBANK W.A. Jr. (1956) - Oak Ridge National Laboratory Rept. ORNL 2226

53 - BROWN-GRANT K. (1957) - Ciba Found Colloq. Endocrinol. 10 97

54 - BROWN-GRANT K. - von EULER C. - HARRIS G.W.& REICHLIN S. (1954) - J. Physiol. (LONDRES) 126 1

55 - BROWN-GRANT K. & GIBSON J.G. (1955) J. Physiol. (LONDRES) 127 352

56 - BROWN-GRANT K. - HARRIS G.W. & REICHLIN S. (1954) - J. Physiol. (LONDRES) 126 29 & 41

57 - BROWN-GRANT K. - HARRIS G.W.& REICHLIN S. (1957) - J. Physiol. (LONDRES) 136 364

58 - BRUES A.M. & ROBERTSON O.H. (1947) -Argonne National Laboratory Rept. ANL 4108 104

59 - BRUES A.M.& ROBERTSON O.H. (1950) - J. Lab. Clin. Med. 36 804

60 - BRUES A.M. & GUSTAFSON P.F. (1954) - Argonne National Laboratory Rept. ANL 5247 24

61 - CAHANE M. ET CAHANE T. (1938) - Acta Med Scand. 94 320

62 - CAMPBELL H.J. - GEORGE R. & HARRIS G.W. (1959) J. Physiol. (LONDRES) 148 5P

63 - CAMPBELL H.J. & HARRIS G.W. (1957) - J. Physiol. LONDRES 136 333

64 - CEHOVIC G. (1957) - C.R. Acad. Sci. 244 2647

65 - CHARTIER J. - VAN KLAVEREN F.W. & VALLLANCOURT G. (1958) - J. Chromatography 1 317

66 - COLFER H.F. (1949) - Trans. Amer. Goiter Assoc. p.376

67 - COMAR D.-BLANQUET P.-RIVIERE R. & KELLERSHOHN D. (1963) - Ann. Fac. Sci. CLERMONT-FERRAND Tome V N° 14 Physique 7° Fascicule p23

68 - CONSDEN R. - CORDON A. H. et MARTIN A.J.P. (1944) - Biochem. J. 38 224

69 - COURRIER R. (1951) -Act. Endocrinol. 7 54

70 - COURRIER R. (1956) -Arch. Biol. (LIEGE) 67 461

71 - COURRIER R. (1957) - Ciba Foun. Colloq. Endocrinol 10 21

72 - COURRIER R. (1957) - Acta Physiol. Pharmacol. Neerl. 6 641

73 - COURRIER R. - BACLESSE M. & GUYON L. (1956) - C.R. Soc. Biol. 150 625

74 - COURRIER R. & COLONGE R. A. (1957) - C.R. Acad. Sci. 245 388

75 - COURRIER R. - HOREAU A. - JACQUES J. - MAROIS M. & MOREL F. (1949) C.R. Acad. Sci. 229 275

76 - COURRIER R. - HOREAU A. - MAROIS M. & MOREL F. (1949) C.R. Soc. Biol. 143 935

77 - COURRIER R. - MOREL F. & COLONGE R.A. (1956) C.R. Acad. Sci. 243 333

78 - COURRIER R. MOREL F. - COLONGE R.A. & ANDRE S. (1954) C.R. Acad. Sci. 238 423

79 - COURRIER R. - ROCHE J. - MICHEL C. et R. et COLONGE R.A. (1956) - C.R. Soc. Biol. 150 1125

80 - COURRIER R. - ROCHE J. - MICHEL C et R & COLONG R.A. (1956) - Bull. Soc. Chim. Biol. 38 1245

81 - COURRIER R. - ROCHE J. - MICHEL O. - MICHEL R. & COLONGE R.A. (1957) - C.R. Acad. Sci. 245 1356

82 - COURRIER R. - TUBIANA M. & MOREL R. (1955)- Bull. Acad. Nat. Med. 139 117

83 - COURRIER R. & ZIZINE L. (1956) - C.R. Acad. Sci. 243 1577

84 - CROWE S.J. - CUSHING H. & HOMANS J. (1909) Quart. J. Exptl. Physiol. 2 389

85 - CURIE I. & JOLIOT F. (1934) - C.R. Acad. Sci. 198 254

86 - CURRI S.B. & FEDELI S. (1955) - Boll. Soc. Biol. Ital. Sper. 31 255

87 - CUSHING H. - CROWE S.J. & HOMANS J. (1910) - Bull. Johns Hopk. Hospt. 21 127

88 - CUTULY E. (1941) Anat. Record. 80 83

89 - DECOURT J. - GUERIN R.A. - GUERIN M. Th. - SAUCIER G. & MICHARD J.P. (1958) Presse Med. 77 1723

90 - DEMOLE E. (1958) - J. Chromatog. 1 24

91 - DEMOLE E. (1959) - "Chromatographic Reviews" - Elsevier Publ. AMSTERDAM 1 1

92 - DEMOLE E. (1961) J. Chromatog. 6 2

93 - DENT C.E. (1948) Biochem. J. 43 169

94 - DESCLIN L. (1956) Ann. Endocrinol 17 586

95 - DOBYNS B.M. & BARRY S.R. (1953) J.Biol. Chem. 204 5I7

96 - DOWLING J.H & WAGNER H.N. (1960) in "KWAN HSU - Advances in Biological and Medical Physics 8 41

97 - DUBREUIL R. & MARTINI L. (1956) - XX° Int. Physiol. Cong. BRUXELLE p. 257

98 - van LYKE H.B. - CHOW B.P. - GREEP R. O & ROTHEN A. (1942) - J. Pharmacol. Exptl. Therap. 74 190

99 - ECKERTOVA A. & FRANC Z. (1961) - Ceskolovenska fysiologie 10 48

100- EDWARD C.H. - GADSEN E.L.- CARTER L.P. & EDWARD G.A. (1959) - J. Chromatog. 2 188

IOI- von EULER C. & HOLMGREN B. (1956) - J. Physiol. (LONDRES) 131 125

102- von EULER C. & HOLMGREN B. (1956) J. Physiol. (LONDRES) 131 137

103- FAURE J. (1956) C.R. Soc. Biol. 150 2212

104- FAURE J. (1957) - J. Physiol. (PARIS) 49 154

105- FAURE J. (1957) - J. Med. BORDEAUX 134 997

106- FAURE J. (1958) - Sud Med. Chir. 91 7028

107- FAURE J. (1958) - Rev. Neurol. 99 170

108- FAURE J. (1959) - Rev. Pathol. Gen. Comparée 59 167

109 - FAURE J. (1959) - Rev Neurol. 100 255

110 - FINK R.M.- DENT C.E.& FINK K. (1947) - Nature 160 801

111 - FINK R.M. & FINK K. (1948) - Science 108 358

112 - FLETCHER K. (1957) Biochem; J. 67 140

113 - FLORENTIN P. & STUTINSKY F. (1936) - C.R.Soc.Biol. 122 674

114 - FLORSHEIM W.H. (1958) - Endocrinology 62 783

115 - FLORSHEIM W.H. - IMAGAWA D.T.& GREER M.A.(1957)- Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 4 664

116 - FLORSHEIM W.H. & KNIGGE K.M. (1961) - Am. J. Physiol. 200 498

117 - FORD D.H. - COREY D.H. & GROSS J. (1957) - Endocrinology 61 426

118 - FORD D.H. & GROSS J. (1958) - Endocrinology 63 549

119 - FORD D.H. - POSNER M. & GROSS J. (1955) Ant. Record 121 294

120 - GAILLARD G. (1962) - Thèse Pharmacie CLERMONT FERRAND

121 - GALTON V.A & PITT-RIVERS R. (1958) - Biochem; J. 72 310

122 - GANONG W.F. - FREDERICKSON D.S. & HUME D.M. (1955) - Endocrinology 57 355

123 - GARCIA J. - HARRIS H. W. & SCHINDLER W.J. (1962) - J. Physiol. (LONDRES) 16 347

124 - GIDDINGS J.C. & KELLER R.A. (1959) J. Chromatog. 2 626

125 - GIRI K.V. (1945) - Current Sci. India 20 296

126 - GIRI K.V. & RAO N.A.N. (1952) - J. Indian Inst. Sci. 34 95

127 - GIRI K.V. & RAO N.A.N. (1953) - J. Indian Inst. Sci. 35 343

128 - GRAFE E. & GRUNTHAL E. (1929) - Klin. Wschr. 8 1013

129 - GREEN J.D. & HARRIS G.W. (1947) - J. Endocrinol 2 136

130 - GREER M.A. (1951) - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 77 603

131 - GREER M.A. (1952) - J. Clin. Endocrinol. & Metabol. 12 1259

132 - GREER M.A. (1955) - Endocrinology 57 755

133 - GREER M.A. (1959) - Endocrinology 64 724

134 - GREER M.A. & ERWIN H.L. (1954) - J. Clin. Invest. 33 938

135 - GREER M.A & RIGGLE G.C. (1957) - Electroencephalog. & Clin. Neurophysiol. 9 151

136 - GREER M.A. - SCOW R.O. & GROBSTE IN C. (1953) - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 82 28

137 - GRIGNON G. (1955) C.R. Soc. Biol. 149 1448

138 - GRIGNON G. (1955) C.R. Soc. Biol. 149 1457

139 - GRIGNON G. (1956) - "Développement du complexe hypothalamo-hypophysaire chez l'embryon de poulet" Soc. d'Impressions Typographiques- NANCY

140 - GRIGNON G. (1957) - Bull. Soc. Sci. NANCY 16 86

141 - GRONKVIST K.E. & HELLBERG H. (1951) Farmacetisk Revy 50 189

142 - de GROOT J. (1959) - "The Rat Forebrain in stereotaxic coordinates" TWEEDE REEKX Publ. DEEL;

143 - GROSS J. (1953) - Brit. Med. Bull. 10 218

144 - GROSS J. - LEBLOND C.P. - FRANKLIN A.E. & QUASTEL J.H (1950) - Science 111 605

145 - GROSS J. & PITT-RIVERS R. (1951) - Lancet 2 766

146 - GROSS J. & PITT-RIVERS R. (1952) - Lancet 1 439

147 - GUILLEMIN R. - HEARN W.R. - CHEEK W.R. & HOUSHOLDER D.E. (1957) - Endocrinology 60 488

148 - GUILLEMIN R. - NICHOLS B. & LIPSCOMB H. (1958) C.R. Acad. Sci. 247 1662

149 - GUILLEMIN R. & ROSENBERG B. (1955) - Endocrinology 57 599

150 - GUILLEMIN R. YAMAZAKI E. - JUTISZ M. & SAKIZ E. (1962) - C.R. Acad. Sci. 255 1018

151 - HAMILTON J.G. & SOLEY M.H. - (1939) Amer. J. Physiol. 127 557

152 - HAMILTON J.G. - SOLEY M.H. & LAWRENCE (1942) J. Clin. Invest. 21 624

153 - HARINGTON C.R. (1926) Biochem. J. 20 300
154 - HARINGTON C.R. & BARGER G. (1927) Biochem. J. 21 169
155 - HARPER E.C. & MATTIS P.A. (1950) - Fed. Proc. 9 282
156 - HARPER E.C. & MATTIS P.A. (1951) - Fed. Proc. 10 306
157 - HARRIS G.W. (1950) J. Physiol. (LONDRES) 111 347
158 - HARRIS G.W. (1955) - "Neural control of Pituitary gland" Arnold Publ. LONDRES
159 - HARRIS G.W. (1956) in "Hypothalamic-hypophysial interrelationships" by FIELDS W.S.- GUILLEMIN R. & CARTON C.A.- Thomas - SPRINGFIELD. p 31
160 - HARRIS G.W. (1959) in "Comparative Endocrinology" by GORBMAN A. - J. Whiley & Sons - NEW YORK - p 202
161 - HARRIS G.W. (1960) Acta Endocrinol. 34 suppl. 50 15
162 - HARRIS G.W. & WOODS J.W. (1957) - Ciba Found. Colloq. Endocrinol. 10 3
163 - HARRIS G.W. & WOODS J.W (1958) J. Physiol (LONDRES) 143 246
164 - HAYMAKER W. & ANDERSON E. (1936) - J. Path. Bacterio. 42 399
165 - HERTZ R. - ALLEN M.J. & TULLNER W.W. (1950) - Proc. Soc. Exptl . Biol. Med. 75 627
166 - HERTZ R. - TULLNER W.W. & ALLEN M.J. (1951) - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 77 480
167 - HERTZ S.A. - ROBERTS H. & EVANS R.A. (1938) - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 38 510
168 - HILD W. (1951) Acta Neuroveget. 3 81
169 - HILL R.T. & GARDNER W.U. (1936) - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 34 78
170 - HSU K. (1962).- Advances in biological and Medical physics 8 41
171 - HUGUENIN R.L. & BOISSONNAS R.A. (1961) - Helv. Chim. Acta 44 219
172 - ISMAILOV N.A. & SHRAIBER M.S. (1938) - Farmatsija 3 1
173 - JENSEN J.M. & CLARKE D.E. (1951) J. Lab. Clin. Med. 38 663
174 - JOLIOT F. - BOVET D. - COURRIER R. - HOREAU A. - POUMEAU-DELILLE G. & SUE P. (1945) C.R. Soc. Biol. 139 278

175 - JOLIOT F. - COURRIER R. - HOREAU A. & SUE P. (1944) -C.R. Soc. Biol. 138 325

176 - JOLIOT F. - COURRIER R. - HOREAU A. & SUE P. (1944) - C.R. Acad. Sci. 218 769

177 - JOLIOT F. - COURRIER R. - SUE P. & HOREAU A. (1945) C.R. Soc. Biol. 139 657

178 - KAWEREAU E. (1956) - Chromatographic Methods 1

179 - KELLERSHOHN C. - COMAR D. & LE POEC C. (1961) - Inter J. Appli. Radiation and Isotopes 12 87

180 - KENDALL E.C. (1915) J. Biol. Chem. 20 501

181 - KENDALL E.C. (1915) - Trans. Assoc. Amer. Phys. 30 420

182 - KENDALL E.C. (1915) - J. Amer. Med. Assoc. 64 2042

183 - KESTON A.S. - UDENFRIEND S. & CANNAN R.K. (1949) - J. Amer. Chem. Soc. 68 1390

184 - KEYNES R.D. & LEWIS P.R. (1950) Nature 165 809

185 - KEYNES R.D. & LEWIS P.R. (1951) - J. Physiol. (LONDRES) 114 151

186 - KIRCHNER J.G. - MILLER J.M & KELLER G.J. (1951) - Anal. Chem. 23 420

187 - KNIGGE K.M. (1961) - Endocrinology 68 101

188 - KRIEG W.J.S. (1946) - Quart. Bull. Northwestern Univ. Med. School 20 I99

189 - KRISHNAMURTHY K. & SWAMINATHAN M. (1955) - Anal. Chem. 27 1396

190 - KOVACS S. - VERTES M. & KOVESI G.Y. (1960) - Acta. Physiol. Acad. Sci. Hung. 17 295

191 - KUSCHKE H. J. & GRUNER H. (1954) - Klin. Wochschr. 32 563

192 - LAJUS A. (1962) - Thèse mention Pharmacie - BORDEAUX

193 - LEBLOND C.P. & SUE P. (1940) C.R. Soc. Biol. 133 543

194 - LEDDICOTTE G.W. - MULLINS W.T. - BATE L.C. - EMERY J.F.- DRUSCHEL R.E. & BROOKSB AND W.A. Jr (1959) - Proc. 2nd Cong. Peaceful USES Atomic Energy GENEVE A/CONF/15/P/927 8pp

195 - LEDDICOTTE G.W. & REYNOLDS S.A.(1951) Nucleonics 8 62

196 - LEDERER E. (1959) "Chromatographie" Masson Ed. PARIS Tome II

197 - LEDERER M. - (1955) Anal. Chem. Acta 12 142

198 - LEGAIT E. & LEGAIT H. (1955) - Bull. Assoc. Franc. Etude Cancer 42 564

199 - LEGAIT E. & LEGAIT H . (1956) - C.R. Soc. Biol. 150 1429

200 - LEGAIT E. & LEGAIT H. (1957) - Acta Anat. 30 429

201 - LEGAIT H. (1955) C.R. Soc. Biol. 149 1016

202 - LEGAIT H. (1957) - Acta Neuroveget 15 252

203 - LAGAIT H. (1957) - C.R. Soc. Biol. 151 761

204 - LEGAIT H. (1958) C.R. Soc. Biol. 152 825

205 - LEMMON R.M. - TARPEY W. & SCOTT K.G. (1950) J. Amer. Chem. Soc. 72 758

206 - LIBERT O. (1962) Biol. Med. 51 260

207 - LINDB ERG O. & HUMMEL J.P. (1949) - Arki-Kemi 1 17

208 - LISSITZKY S. (1952) - Thèse SCiences PARIS.

209 - LISSITZKY S. & LARSY S. (1958) - Bull. Soc. Chem. Biol. 40 609

210 - LOJDA Z. & SHREIBER V. (1962) Ceskoslovenska fysiologie 11 314

211 - LOVERIDGE B.A. & SMALE A.A. (1957) Meth. Biochem. Anal. 5 225

212 - MACHATA G. (1960) - Mikrochim. Acta 79

213 - MADELES (1960) J. Chromatog. 3 256

214 - MAEDA H. (1961) Folia Endocrinol. Jap. 37 364

215 - MANN W. -LEBLOND C.P. & WARREN S.L. (1942) J. Biol. Chem. 142 905

216 - MARINE D. & ROGOFF J.M. (1916) J. Pharm. Exp. Therap. 81 431

217 - MAROIS M. (1951) - Anna. Endocrinol. 12 333

218 - MAROIS M. & MOREL F. (1951) Arch. Anat. Histol. & Embryol. 34 275

219 - MARTIN A.J.P. (1947) Endeavour 6 21

220 - MARTIN A.J.P. & SYNGE R.L.M. (1941) Biochem.J. 35 1358

221 - MARTINOVITCH P.N. (1950) - Nature 165 33

222 - MAY R.M. (1935) C.R. Soc. Biol. 120 867

223 - MAY R.M. (1937) C.R. Soc. Biol. 124 920

224 - MAYER S.W. - KELLY F.H. & MORTON M.E. (1956) J. Pharmacol. Exptl. Therap. 117 197

225 - Mc FARREN E.F. (1951) Anal. Chem. 23 168

226 - MEINKE W.W. (1956) - Anal. Chem. 28 736

227 - MEINKE W.W (1958) - Anal. Chem. 30 686
228 - MEINKE W.W. (1959) Anal. CHem. 31 792
229 - MERTZ D.P. (1959) Z. Klin. Med. 156 138
230 - MERTZ D.P. (1959) Pfugers Arch. Ges. Physiol. 270 56
231 - MERTZ D.P. (1962) - Acta Endocrinal Danemark 40 290
232 - MEUNIER J.M. (1961) - Thèses Sciences - BORDEAUX
233 - MEYNIEL G. (1958) - Thèses Science BORDEAUX
234 - MEYNIEL G. - BLANQUET P. - MOUNIER J. & ESTIBOTTE M. (1958) - Bull. Soc. Chim. Biol. 40 369
235 - MEYNIEL G. - BLANQUET P. - MOUNIER J. & ESTIBOTTE M. (1958) - Bull. Soc. Pharm. BORDEAUX 97 16
236 - MEYNIEL G. - BLANQUET P. - MOUNIER J. - HIRTZ G. - STOLL R. & MARAUD R. (1957) - C.R. Soc. Biol. 151 1877
237 - MIRANDA F. & LISSITZKY S. (1959) - J. Chromatog. 2 354
238 - MOFFAT E.D. & LYTLE R.I. (1959) - Anal. Chem. 31 926
239 - MOORE S. & STEIN W. H. (1949) J. Biol. Chem. 178 53
240 - MOORE S. & STEIN W. H. (1951) J. Biol. Chem. 192 663
241 - MOREL F. & SIMON CL. (1956) - C.R. Acad. Sci. 242 817
242 - MOTTIER M. (1958) - Mitt. Gebiette Lebensm. u Hyg. 49 454
243 - MULLER A. - BERSIN T. & SCHWARZ H. (1952) - Schweiz. Med. Wschr. 82 765
244 - MULLER L. & BESSON R. (1959) Rev. Franç. Etudes Clin & Biol. 4 846
245 - MUTSCHLER E. & ROCHELMEYER H. (1959) Arch. Pharm. 292 449
246 - NIEDERWIESER A. & PATAKI G. (1960) Chimia Switz. 14 378
247 - OGAWA E. - ARAI K. & SHIB ATA K. (1956) Endocrinol. Jap. 3 211
248 - OTTAVIANI G. & AZZALI G. (1955) Acta Neuroveget. 13 80
249 - OWEN C.A. & Mc CONAHEY W.M. (1956) J. Clin. Endocrinol. Metabol. 208 369

250 - PERRY W. F. (1951) - Endoctrinology 48 643

251 - PHELPS D. - ELLISON E.T. & BURCH J.C. (1939) - Endocrinology 25 227

252 - POPA G.T. & FIELDING V. (1930) Lancet 219 238

253 - PROOM H. & WOIWOOD A.J. (1951) J. Gen. Microbiol. 5 681

254 - PSYCHOYOS A. (1957) C.R. Soc. Biol. 151 306

255 - PUNTRIANO G. & MEITES J. - Endocrinol. 48 217

256 - PURVES H.D. (1960) -Acta Endocrinol. 34 Supp. 50 21

257 - RANSON S.W. & MAGOUN H.W. (1939) - Erg. Physiol. Biol. u Exptl. Pharmakol 41 56

258 - REICHLIN S. (1957) - Endocrinology 60 470

259 - REICHLIN S. (1957) -Endocrinology 60 567

260 - REITSEMA R.H. - (1954) - Anal. Chem. 26 960

261 - REITSEMA R.H. - J. Ann. Pharma. Assoc. Sci. Ed. 43 414

262 - RIVIERE R. - COMAR D. - BLANQUET P. & KELLERSHOHN C. (1963) Nature, sous presse.

263 - ROBBINS J. - PETERMANN M.L. & RALL J.E. (1954)- J. Biol. Chem. 208 377

264 - ROBBINS J. - PETERMANN M.L. & RALL J. E. - (1954) - J. Biol. Chem. 208 387

265 - ROBINSON D.H.L. & TARGETT G.A.T. (1962) - Nature 194 30

266 - ROCHE J. LISSITZKY S. & MICHEL R. (1952) C.R. Acad. Sci. 234 1228

267 - ROCHE J. - MICHEL R. & NUNEZ J. (1955) - Bull. Soc. Chim. Biol. 37 809

268 - ROCHE J. - MICHEL R. & NUNEZ J. (1959) - in Chomatographie " by LEDERER E. - Masson Ed. PARIS 1959 III 763

269 - ROCHE J. - MICHEL R. - NUNEZ J. & WOLF W. (1955) C.R. Soc. Biol. 149 884

270 - ROQUE PROENCA da CHHNA & PROENCA da CUNHA (1961) - Boletim Cientifico Farm. Univ. COIMBRA 21 1

271 - ROSENBERG I.N. (1951) - J. Clin. Endocrinol. 11 1063

272 - RUTTER L. (1948) - Nature 161 435

273 - RUTTER L. (1950) - Analyst 75 37
274 - SAFFRAN M. & SCHALLY A.V. (1955) - Endocrinology 56 523
275 - SAFFRAN M. & SHALLY A.V. (1955) Can. J. Biochem. Physiol. 33 408
276 - SAFFRAN M. - SCHALLY A.V. & BENFEY B.G. (1955) Endocrinology 57 439
277 - SAITO S. & TANI R (1960) - Endocrinol . Jap. 7 13
278 - SAITO S. TOMIE S. - NISHI K. - ABE C. - YAMAMOTO T. & SHIBUSHAWA K. (1960) - Endocrin. J. 7 311
279 - SAWYER C. & EVERETT J.W. (1959) Endocrinology 66 614
280 - SCHARRER E. & SCHARRER B. (1954) in "HANDBUCH der Mikroskopischen Anatomie des Menschen" - Von MOLLENDORF W. ed. - SPRINGER - BERLIN - VI N°5 993
281 - SCHINDLER W.J. (1962) - Pro.Soc. Med. 55 125
282 - SCHITTENHELM A. & EISLER B. (1932) - Klin. Wschr.11 9
283 - SCHREIBER V. (1956) - Endokrinologie 33 259
284 - SCHREIBER V. - ECKERTOVA A.-FRANC Z. - KOCI J.-RYBAK M. & KMENTOVA V. (1961) - Expérientia Suisse 17 264
285 - SCHREIBER V. - KOCI J. - ECKERTOVA A. - FRANC Z. & Kmentova V. (1961) - Physiol. Bohemeslov. 10 417
286 - SCHREIBER V. - KMENTOVA V. (1959) - Physiol. Bohemoslov. 8 506
287 - SCHREIBER V. - KMENTOVA V. - KRULICH L.-LOJDA Z. - RYBAK M. & JONEC V. (1961) - Physiol. Bohemoslov. 10 227
288 - SCHREIBER V. - RYBAK M. - ECKERTOVA A. - JIRGL V. - FRANC Z. - KOCI J. & KMENTOVA V. (1962) Expérientia Suisse 18 338
289 - SCHREIBER V. - RYBAK M. - LODJA R. & KMENTOVA V. (1961) - Physiol. Bohemoslov. 10 139
290 - SCHWEIZER M. & LONG M.E. (1950) - Endocrinology 47 454
291 - SCHWEIZER M. - CHARIPER H.A. & HATERIUS H.O. (1937) Endocrinology 21 30
292 - SCHWERDTFEGER E. (1953) - Naturwissenschaften 40 201
293 - SHIBUSHAWA K. (1960) -Acta Endocrinol. 34 supp.51 89

294 - SHIBUSHAWA K. - SALTO S. - NISHI K. YAMAMOTO T. - ABE C. & KAWAI T. (1956) Endocrinol. Jap. 3 151

295 - SHIBUSHAWA K. - SALTO S. - NISHI K. - YAMAMOTO T. ABE C. & TOMIZAWA K. (1956) Endocrinol. Jap. 3 116

296 - SHIB USHAWA K. - SALTO S. - NISHI K. - YAMAMOTO T. ABE C. & TOMIZAWA K. (1956) Endocrinol. Jap. 3 138

297 - SHIBUSHAWA K. - YAMAMOTO T. - NISHI K. - ABE C. & TOMIE S. (1959) - Endocrinol. Jap 6 131

298 - SHIBUSHAWA K. - YAMAMOTO T. - NISHI K. - ABE C. & TOMIE S. (1959) - Endocrinol. Jap. 6 137

299 - SHIB USHAWA K. - YAMAMOTO T. - NISHI K. - ABE C. TOMIE S. & SHIROTA K. (1959) - Endocrinol. Jap 6 149

300 - SCOTT K.G. - REAVIS J.C. - SAUNDERS W.W.& WHITE W.E. (1951) - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med 76 595

301 - SMALES A.A (1955) - Proc. Conf. Peacaful Uses Atomic Energy GENEVE 15 73

302 - SPIGOLON G. (1955) Atti. Soc. Lombardo Sci. Med. e Biol. 10 1

303 - STAHL E. (1959) Chem. Ztg. 82 323

304 - STEIN W.H. & MOORE S. (1948) J. Biol. Chem. 176 337

305 - STROLE U. (1955) - Z. Annal. Chem. 144 256

306 - TAUROG A & CHAIKOFF I.L. (1947) - J. Biol.Chem. 171 439

307 - TAUROG A. & CHAIKOFF I.L. (1948) - J. Biol. Chem. 176 639

308 - TAUROG A. - HARRIS G.W. - TONG W. & CHAIKOFF I.L. (1956) - Endocrinology 59 34

309 - TAYLOR T.T.& HAVENS W.W.(1956) in"Physical methods in Chemical Analysis". BERL G.W. - ACADEMIC PRESS - NEW YORK - III 447

310 - TIXIER-VIDAL A. (1957) - C.R. Soc. Biol. 151 5

311 - TIXIER-VIDAL A. (1957) - C.R. Soc. Biol. 151 40

312 - TIXIER-VIDAL A. (1958) - Arch. Anat. Microsc. Exper. 47 236

313 - TOBIAS C. A. & BLANQUET P. (1958) - Meeting of the Amer. Federat. for Clinical Research - CARMEL California.

314 - TOBIAS C.A. & DUNN R.W. (1949) - Science 109 109
315 - TOBIAS C.A. - LAWRENCE J.H. - BORN J.L. - Mc COOMBS R.K. - ROBERTS J?E? - ANGER H.O. - LOW-BEER B.V.A. & HUGGINS C.B. (1958) - Cancer Research 18 121
316 - TOBIAS C.A.- ROBERTS J.E. - LAWRENCE J.H. - LOW-BEER B.V.A. - ANGER H.O.- BORN J.L. - Mc COOMBS R. & HUGGINS C.B. (1955) - University of California Laboratory report 3035
317 - TOBIAS C.A. - Van DyKE D.C. - SIMPSON M.E.- ANGER H.O. - HUFF R.L. & KONEFF A.A (1954) - Amer. J. Roent Rad. Therap. Nuclear Med. 72 1
318 - TURNER R.A. - PIERCE J.G. & du VIGNEAUD V. (1951) - J. Biol. Chem. 191 21
319 - UOTILA U.U - (1939) Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 41 106
320 - UOTILA U.U. - (1939) - Endocrinology 25 605
321 - UOTILA U.U - (1940) - Endocrinology 26 129
322 - UOTILA U.U - (1940) - Res. Publ. Asso. Res. Ment. Des. 20 580
323 - VANNOTTI A. (1957) J. Suisse Med. 87 412
324 - VIGNE J.P. & LISSITZKY S. (1958) - J. Chromatog. 1 309
325 - du VIGNEAUD V. - LAWLER H.C. & POPENOE E.A.(1953) - J. Amer. Soc. 75 4880
326 - du VIGNEAUD V. RESSLER C.H.& TRIPPETT S. (1953) - J. Biol. Chem. 205 949
327 - VRIGNAUD C. (1959) Thèse mention Pharmacie BORDEAUX
328 - WESTMANN A. & JACOBSOHN (1940) Acta Pathol. Microbiol Scand. 17 328
329 - WHITE W.E. (1953) J. Lab. and Cli Med. 41 516
330 - WIELAND T. & BERG A. (1952) Angew. Chem. 64 78
331 - WOITKIEWITCH A. (1944) C.R. Acad. Sci. URSS 45 357
332 - WOLFE R. - DUNN R.W. & TOBIAS C.A.(1949) University of California Radiation Laboratory report U.C.R.L. 480 p 37
333 - WOLFF J. (1951) Endocrinology 48 284
334 - YAMADA T. (1961) Endocrinology 69 706
335 - YAMADA T. & GREER M.A. (1959) Endocrinology 64 559

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION 1

CHAPITRE I 3

1.Lésions de l'hypothalamus 3

2.Stimulations de l'hypothalamus 7

3.Section de la tige hypophysaire 10

4.Greffes d'hypophyse 13

5.Localisation des hormones radioactives 16

6.Culture de tissus 18

7.Evidence morphologique 19

8.Neurostimulation en présence d'hormones 23

9.Action des extraits hypothalamiques 24

10.Action des substances pharmacologiques..... 24

CHAPITRE II - Techniques et méthodes d'exploration de la thyroide..... 26

1.Chromatographie sur papier et sur colonne..... 28

2.Les possibilités nouvelles de la chromatographie 36

- les papiers échangeurs d'ions 36
- la chromatographie en couches minces 37
- la chromatographie circulaire horizontale.. 40

3.L'analyse par activation 41

CHAPITRE III - La stéréotaxie 46

1.Techniques expérimentales 47

- la stéréotaxie 47
- l'histologie 48
- la biochimie 48

2.Résultats expérimentaux 54

CHAPITRE IV - L'hypophysectomie et les greffes 59

1.Techniquesexpérimentale 60

2.Résultats expérimentaux..... 68

CHAPITRE V - A la recherche du TRF 76
1.Technique expérimentale 84
2.Résultats expérimentaux 85

CHAPITRE VI 90

CONCLUSIONS 94

BIBLIOGRAPHIE 95